UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

MARCELLA BORSONELLO DA COSTA

**Caracterização metabolômica do plasma de tourinhos Nelore com
divergentes DEPs de crescimento**

PIRASSUNUNGA

2018

MARCELLA BORSONELLO DA COSTA

**Caracterização metabolômica do plasma de tourinhos Nelore com
divergentes DEPs de crescimento**

VERSÃO CORRIGIDA

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Qualidade e Produtividade Animal.

Orientador: Prof. Arlindo Saran Netto

PIRASSUNUNGA

2018

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C837c Costa, Marcella Borsonello da
Caracterização metabólica do plasma de tourinhos
Nelore com divergentes DEPs de crescimento /
Marcella Borsonello da Costa ; orientador Arlindo
Saran Netto. -- Pirassununga, 2018.
60 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. Metabólitos. 2. Genética. 3. RMN. 4.
Desempenho. 5. Marcadores biológicos. I. Saran
Netto, Arlindo, orient. II. Título.

MARCELLA BORSONELLO DA COSTA

**Caracterização metabolômica do plasma de tourinhos Nelore com
divergentes DEPs de crescimento**

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Qualidade e Produtividade Animal.

Orientador: Prof. Arlindo Saran Netto

Data de aprovação: ____/____/____

Banca Examinadora:

Prof. Dr. _____

Instituição _____

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição _____

Prof.(a) Dr.(a) _____

Instituição _____

Dedico esse trabalho aos meus pais, Jair e Selma, e à minha irmã

Amanda, por todo amor e inspiração.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Arlindo Saran Netto, pela confiança depositada em meu trabalho; pela dedicação e comprometimento com a orientação na formação de profissionais.

À Nara Cênsolo, pela disposição; por todo o aprendizado adquirido e compartilhado ao longo do trabalho e principalmente por demonstrar tanto carinho pela profissão.

Ao professor Saulo Silva, por ceder as instalações do Laboratório de Avaliação Animal e Qualidade de Carne do Departamento de Zootecnia e pelas contribuições para o aperfeiçoamento do trabalho na banca de qualificação e defesa desse trabalho.

Ao Filipe Zanferari, por prontamente aceitar colaborar na melhoria dessa dissertação, fazendo parte da banca de defesa.

Ao Erick Dallantonia, por ter me incentivado nesse desafio; por todo ensinamento e companheirismo.

À Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo pelo ambiente acolhedor e por todo o conhecimento adquirido nesses últimos anos.

Aos colegas que me ajudaram na execução do experimento; pela convivência e experiências compartilhadas.

À Embrapa São Carlos; pelo apoio cedido na realização das análises de Ressonância Magnética Nuclear.

À Minerthal, por ceder o suplemento mineral utilizado nesse projeto.

À minha família e amigos, pelo incentivo e apoio constante.

À Agrocères Multimix, por me possibilitar a oportunidade de crescimento; a confiança depositada em mim e por me permitir concluir essa etapa.

A todos que de alguma forma contribuíram para a execução deste trabalho.

A Deus por ter iluminado meu caminho nessa jornada e me proporcionar experiências maravilhosas.

Muito obrigada.

RESUMO

COSTA, M. B. **Caracterização metabólica do plasma de tourinhos Nelore com divergentes DEPs de crescimento**. 2018. 60 f. Defesa de dissertação – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

A identificação e seleção de animais com maior potencial genético de crescimento vem proporcionando um aumento substancial nos índices produtivos. Para tanto, ferramentas do melhoramento genético vem sendo utilizadas, além disso, mudanças nos padrões de crescimento animal, podem alterar o metabolismo animal e consequentemente os metabólitos. Dessa forma, o objetivo desse trabalho, foi analisar o efeito do potencial genético para crescimento avaliado pós-desmama no desempenho e metaboloma do plasma de machos Nelore durante o período de terminação. Foram coletadas amostras de plasma de 74 bovinos Nelore com diferente potencial de crescimento e provindos de dois rebanhos distintos. Ambos os rebanhos foram divididos em animais de alta potencial genético para crescimento e baixo potencial genético para crescimento. Os animais permaneceram alojados em confinamento, recebendo a mesma dieta durante todo o período experimental. Os animais foram pesados periodicamente para avaliar a ganho médio diário e no dia anterior ao abate foi realizada coleta de sangue para análise metabólica do plasma. O perfil metabólico das amostras de plasma foi determinado utilizando a Ressonância Magnética Nuclear. Durante a seleção dos animais do rebanho 1 durante a fase de recria, o ganho de peso dos animais do rebanho 1 de alto crescimento, foi 323 g/dia superior ($P < 0,0001$) e o peso vivo ao sobreano foi de 54 kg maior ($P = 0,05$) comparado aos animais de baixo crescimento, evidenciando diferenças fisiológicas e fenotípicas entre os grupos nesse momento. Também foi observado no rebanho 1 maior peso vivo ao final do período de 35 kg ($P = 0,004$) para os animais de alto crescimento. Além disso, os resultados obtidos nesse estudo, não mostraram diferenças estatística entre os diferentes potenciais genéticos para crescimento ao final da terminação. Dessa forma, o presente estudo conclui que a diferença fenotípica em função do potencial genético para crescimento ocorreu no período de seleção da mesma, porém essa diferença não foi observada durante a terminação dos animais, da mesma forma, não houve diferença metabólica no plasma dos animais de acordo com o potencial genético para crescimento, avaliada no período final da terminação.

Palavras-chave: Metabólitos. Genética. RMN. Desempenho. Marcadores biológicos.

ABSTRACT

COSTA, M. B. **Metabolomic characterization of plasma of Nelore bulls with divergents EPDs for growth.** 2018. 60 f. Defesa de dissertação – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

The identification and animals selection with greater genetic potential of growth has provided a substantial increase in the productive indexes. For many tools of genetic breeding, changes in animal growth patterns have been used, they can modify animal metabolism and consequently, metabolites. Therefore, the objective of the present work was to analyze the effect of the genetic potential for post-weaned growth on the performance and metabolome of Nelore male bull plasma during the finishing period. Plasma samples were collected from 74 Nelore bulls with different growth potential and from two different herds. Both herds were divided into animals of high and low genetic potential for growth. The animals were kept in feedlot, receiving the same diet throughout the experimental period. The animals were periodically weighed to evaluate the mean daily gain and the day before slaughter, blood collection was performed for metabolic analysis of the plasma. The metabolomic profile of the plasma samples was determined using Nuclear Magnetic Resonance. During the selection of animals from herd 1 during the growing phase, the weight gain of the high growth herd 1 animals was 323 g / day higher ($P < 0.0001$) and the live weight to the overane was 54 kg higher ($P = 0.05$) compared to low growth animals, evidencing physiological and phenotypic differences between the groups at that time. It was also observed in the herd 1 greater live weight at the end of the period of 35 kg ($P = 0.004$) for the high growth animals. In addition, the results obtained in this study did not show statistical differences between the different genetic potentials for growth at the end of the study. Therefore, the present study concludes that the phenotypic difference as a function of the genetic potential for growth occurred during the selection period, although this difference was not observed during the finishing of the animals, in the same way, there was no metabolomic difference in the animals plasma according to the genetic potential for growth, evaluated in the final termination period.

Keywords: Metabolites. Genetics. NMR. Performance. Biological markers.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Diagrama esquemático de um espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN)	27
Figura 2 – Ganho médio diário em kg/dia. A cor azul representa os animais de alto potencial para crescimento e a cor negra os animais de baixo potencial para crescimento	35
Figura 3 – Média de peso vivo e peso de carcaça quente. A cor azul representa os animais de alto potencial para crescimento e a cor negra os animais de baixo potencial para crescimento	35
Figura 4 – Análise dos principais componentes referente ao metaboloma do plasma dos animais provindo do rebanho 1	37
Figura 5 – Análise dos principais componentes referente ao metaboloma do plasma dos animais provindo do rebanho 2	38
Figura 6 – Identificação dos picos de espectro da análise plasmática de bovinos de ambos os grupos com alta e baixa DEP, representando a janela espectral de 0,8 a 2,6 ppm	39
Figura 7 – Identificação dos picos de espectro da análise plasmática de bovinos de ambos os grupos com alta e baixa DEP, representando a janela espectral de 3,05 a 4,10 ppm	39
Figura 8 - Padrões espectrais para cada metabólito usando os parâmetros de RMN medidos experimentalmente. Os espectros são agrupados para diferentes gamas de ppm de 0 ± 5 ppm e 0 ± 10 ppm	40
Figura 9 – Quantificação dos aminoácidos do plasma de bovinos Nelore de alto e baixo potencial para crescimento do Rebanho 1	49
Figura 10 – Quantificação dos aminoácidos do plasma de bovinos Nelore de alto e baixo potencial para crescimento do Rebanho 2	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Média da DEP para os animais com maior e menor DEP para crescimento pós desmama ao sobreano.....	30
Tabela 2 – Composição percentual da dieta utilizada (na matéria seca)	31
Tabela 3 - Concentração dos metabólitos plasmáticos ($\mu\text{mol/L}$) obtido pela $^1\text{H-NMR}$ em bovinos Nelore do rebanho 1 com divergente potencial genético para crescimento.....	42
Tabela 4 - Concentração dos metabólitos plasmáticos ($\mu\text{mol/L}$) obtido pela $^1\text{H-NMR}$ em bovinos Nelore do rebanho 2 com divergente potencial genético para crescimento.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA – aminoácido

ADP - adenosina difosfato

AGCC – ácido graxo de cadeia curta

ALT - altura

AMP - adenosina monofosfato

AOL – área de olho de lombo

ATP – adenosina trifosfato

BHB - beta-hidroxibutirato

CAR- consumo alimentar residual

CPM - precocidade e musculosidade

DEP - diferença esperada na progênie

DG - duração da gestação

DPP - dias para o parto

EM- espectrometria de massa

GC-MS - cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

GMD – ganho médio diário

GP345 – ganho de peso aos 345 dias de idade

IPP - idade ao primeiro parto

N – nitrogênio

PCA - análise de componentes principais

PCr – creatina fosfato

PE - perímetro escrotal

PVf – peso vivo final

PVi – peso vivo inicial

RMN - ressonância magnética nuclear

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1	Crescimento e desenvolvimento animal.....	14
2.2	Diferença esperada na Progenie (DEP).....	15
2.3	Estudo Metabolômico do Desempenho Animal	19
2.4	Metabólito de interesse	20
2.5	Análise de Metabólitos para Características de Interesse Econômico	25
3	HIPÓTESE.....	28
4	OBJETIVO.....	29
5	MATERIAL E MÉTODOS	30
5.1	Local e Animais.....	30
5.2	Desempenho.....	31
5.3	Parâmetros sanguíneos	32
5.4	Análise em RMN de alto campo (600MHz)	32
6	ANÁLISE DE DADOS	33
7	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
8	CONCLUSÃO	51
	REFERÊNCIAS.....	52
	ANEXO.....	60

1 INTRODUÇÃO

A bovinocultura de corte é uma atividade de grande impacto econômico nacional e internacional, responsável pela geração de inúmeros empregos diretos e indiretos. O Brasil tem o maior rebanho comercial de bovinos de corte do mundo e é um importante exportador de carne bovina (USDA, 2016). *Bos indicus* (Nelore) é a raça predominante no rebanho bovino brasileiro, e a carne produzida por esses animais representa cerca de 15,3% do comércio mundial de carne bovina (FAOSTAT, 2015).

A revolução da indústria pecuária brasileira é impulsionada principalmente pelo aumento substancial do consumo de carne nas últimas décadas. Por esta razão, nos últimos anos, a bovinocultura de corte vem sendo intensamente selecionadas a fim de incrementar o ganho de peso corporal, o peso da carcaça e os rendimentos das carnes. Dentre as formas de identificação e seleção de animais superiores, a diferença esperada na progênie (DEP), obtida por um procedimento conhecido como avaliação genética de reprodutores, vem sendo bastante utilizada nos rebanhos a fim de selecionar animais geneticamente superiores para diversas características de interesse econômico. Nesse conceito, entende-se que reprodutores com maior DEP para determinadas características, terão filhos com maior potencial genético quando comparado aos filhos de touros com menores DEPs, para as mesmas características (OKUT et al., 2013; SAPP et al., 2002).

Dentre as características produtivas selecionadas, o crescimento, especialmente pós - desmama, vem sendo amplamente estudado. As tendências genéticas avaliadas para crescimento pós desmama foram relatadas por Ceacero et al. (2015), utilizando a DEP. Os autores sugerem que, ao longo dos últimos trinta e cinco anos, observou-se um tremendo progresso genético no peso ao desmame (de 0,15 a 0,61% da média/ano) pós-desmame (de 0,15 a 0,77% da média/ano) e no ganho de peso pós-desmame (de 0,11 a 1,02% da média / ano). Nesse sentido, o avanço da seleção genética tem implicações para maximizar a seleção e minimizar a perda de variação genética.

Sabe-se que o fenótipo é a expressão do genótipo em um ambiente, e esse é o resultado do metabolismo animal, das vias metabólicas e seu produto final, os

metabólitos. De modo geral, a análise de metabólitos não é recente, e tradicionalmente realizada através de análise bioquímica, utilizando kits individuais para cada metabólito, permitindo apenas a quantificação de metabólitos pré-estabelecidos, sem um amplo estudo das amostras. Recentemente, técnicas de espectrometria de massa (EM) e ressonância magnética nuclear (RMN) mostram-se viáveis para o estudo amplo e não direcionado dos metabólitos. A vantagem dessas técnicas é a identificação e quantificação de centenas de metabólitos em uma única amostra, permitindo um conhecimento amplo desses compostos relacionados com as características de interesse.

Estudos relacionados aos metabólitos (metabolômica) tem se mostrado uma boa ferramenta para melhor entendimento do metabolismo animal. Este fato se deve a capacidade do estudo da metabolômica de adquirir uma grande quantidade de informações a respeito do comportamento de um organismo através de seu metabolismo. Os dados metabólicos, quando acoplados com dados genômicos, parecem aumentar a precisão da predição de características de interesse econômico (KARISA et al., 2014). Dessa forma, a combinação de dados metabolômicos e genômicos podem ser usados concomitantemente a fim de maximizar a seleção dos animais superiores, afinal, a medição e análise abrangentes de metabolitos (via metabolômica) permitem compreender as relações entre os genes e o meio ambiente.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO ANIMAL

O conhecimento da curva de crescimento e dos fatores que influenciam no crescimento animal é fundamental para uma melhor eficiência no sistema de produção de carne. O crescimento animal envolve interações entre fatores hormonais, nutricionais, genéticos e de metabolismo e é determinado através do aumento da massa dos tecidos do corpo, seja pela produção e multiplicação de novas células, ou pelo aumento do tamanho das células existentes, denominados hiperplasia e hipertrofia, respectivamente (OWENS; DUBESKI; HANSON, 1993).

O crescimento apresenta características aonde os tecidos possuem taxas de crescimento diferentes, as quais se alteram em fases distintas da vida do animal e estão relacionadas ao tempo que este animal leva para atingir a maturidade. Dentre os principais componentes da carcaça e posterior ao crescimento dos órgãos, o tecido ósseo se desenvolve mais precocemente, seguido do muscular e, finalmente, do tecido adiposo (BERG; BUTTERFIELD, 1976).

O crescimento dos animais pode ser descrito por uma sequência de medidas de tamanho e deposição dos tecidos do corpo em função do tempo, podendo ser ajustado em uma curva sigmóide, ou seja, crescimento pós-natal é lento, mas aumenta rapidamente após essa fase e até a puberdade quando começa a diminuir, até estágios mais avançados, onde posteriormente a taxa de crescimento é reduzida (GRANT; HELFERICH, 1991).

Nos órgãos vitais, é onde começa a ocorrer mais precocemente a desaceleração, em seguida, se estende aos ossos e músculos, respectivamente. Desse modo, ocorre aceleração do crescimento dos tecidos adiposos em estágios mais avançados do crescimento pós-natal (GRANT; HELFERICH, 1991).

Quanto maior a deposição de tecido adiposo na carcaça, menor será a proporção de carne. Desse modo, é possível notar que a diferença de deposição dos tecidos determina o rendimento de carcaça e de carne, além de estarem diretamente relacionados ao processo de produção dentro de um frigorífico influenciando, por exemplo, o processo de resfriamento de carcaça. Além disso, o conhecimento sobre

as características de crescimento, ajuda a tomar decisões sobre as diversas áreas envolvidas na cadeia produtiva (PAULINO et al., 2009).

Animais precoces depositam gordura antes do que animais considerados tardios, a precocidade é definida pelo tempo que o animal leva para atingir a puberdade, ocasião em que o crescimento ósseo é finalizado e diminui o crescimento muscular, então é intensificada a deposição de gordura na carcaça.

A deposição de gordura e o peso animal, são características para detectar o ponto de abate, sendo a deposição de gordura indispensável para conferir ao produto condições mínimas de manuseio e palatabilidade, sendo também responsável pela redução da velocidade de resfriamento das carcaças (SAINZ; ARAUJO, 2001).

Um dos métodos para se alcançar um bom desempenho no crescimento animal é através do melhoramento genético.

2.2 DIFERENÇA ESPERADA NA PROGÊNIE (DEP)

O melhoramento genético de gado de corte vem de longa data, sendo que as principais ferramentas utilizadas para realizar tal progresso são a seleção e/ou cruzamento entre as raças ou com diferentes linhagens de animais da mesma raça. Acredita-se que a forma mais rápida de promover o melhoramento genético de um rebanho é através de cruzamentos. Diversos estudos demonstram que animais cruzados obtêm melhor desempenho em relação aos animais puros, em razão da melhor adaptação ao ambiente e nutrição ao qual estão submetidos (CAMPIDELLI; JOSAHKIAN, 2011). Contudo, isso não elimina a necessidade, e muito menos diminui a importância da seleção como método de melhoramento genético a ser realizado concomitantemente.

A seleção genética busca animais mais eficientes, que responda a melhor nutrição e se adequem aos sistemas produtivos. Para análise dos resultados no melhoramento genético, é necessário conhecer o valor genético dos animais a serem selecionados, pois isso permite que cheguemos mais rápido aos animais que desejamos trabalhar. Geralmente os animais selecionados são melhores adaptados ao meio ambiente, ao mercado consumidor (carne ou leite) e a outros objetivos secundários.

Para melhor entendimento do valor genético dos animais, os programas de melhoramento animal têm desenvolvido tecnologias, dentre elas a diferença esperada na progênie (DEP), a qual é uma variável que permite uma avaliação mais precisa do valor genético dos animais para muitas características de importância econômica, sendo esses valores fáceis de interpretar e utilizar no dia-a-dia do campo (EUCLIDES FILHO, 1995). O valor da DEP é a metade do valor genético, uma vez que, cada um dos pais transmite apenas metade de seus genes para sua progênie (ALBUQUERQUE et al., 2003).

A utilização da DEP se dá pela comparação de uma futura progênie de um animal com a progênie de outros animais da mesma raça. A DEP não deve ser usada para prever o desempenho de uma ou duas progênies de um animal, mas sim para comparar animais com base na estimativa de desempenho de suas progênies, sendo que essa ferramenta prediz diferença e não valor inteiro.

Não há como comparar DEPs entre raças diferentes – a DEP para peso no desmame de uma raça é diferente da mesma DEP para peso no desmame de outra raça, uma vez que as avaliações são feitas em bases específicas, por isso é importante conhecer a média da raça. Por exemplo, se a DEP para peso na desmama dos reprodutores “A” e “B” for de 4 kg e de 1 kg, respectivamente, podemos esperar, em média, que os filhos do reprodutor “A” pesarão 3 kg a mais na desmama do que os filhos do reprodutor “B”. Sendo que os valores de DEPs podem ser expressos como negativos ou positivos em unidades da característica em relação a um ponto base zero (LÔBO, 2002).

Com base no relatado, podemos afirmar que os valores de DEPs são um instrumento de grande importância na hora da escolha dos animais que entrarão em reprodução, a fim de produzir descendentes superiores que os demais animais contemporâneos. Essa relação gera grande impacto na busca do aumento de produtividade, competitividade e aumento nos lucros, uma vez que, a identificação do valor genético de cada animal permite que o criador chegue ao tipo de animal que ele deseja mais rapidamente.

Inicialmente os animais da raça Nelore sofreram seleção para sete características, sendo 6 relacionadas a produtividade e 1 de fertilidade, baseado na avaliação de um grupo pequeno de rebanhos. Segundo Santiago (1987) as

características que mais interessavam aos criadores eram fertilidade, padrão racial e desempenho. Para alcançar esses padrões, se aumentam os estudos direcionados a características que possibilitem uma melhor eficiência na reprodução e na produção desses animais (PINTO, 1994).

Hoje em dia as DEPs são comumente encontradas em sumários de touros, catálogos de leilões e em centrais de inseminação artificial, aonde são disponibilizados os resultados das DEPs para 28 características. Além disso, hoje o melhoramento evoluiu e possui ferramentas mais eficazes que permitem maior confiabilidade nos resultados de animais jovens, aumentando a acurácia dos dados e diminuindo o intervalo de geração (ALENCAR, 2004).

As características estimadas e avaliadas nos sumários têm como finalidade prever os valores genéticos dos touros para as características julgadas importantes ao criador. As principais características utilizadas na maioria das avaliações genéticas realizadas no Brasil são para avaliações do peso ao nascer, peso a desmama, materno total, ganho de peso ao sobreano, conformação, precocidade e musculosidade (CPM), perímetro escrotal (PE), altura (ALT), idade ao primeiro parto (IPP), duração da gestação (DG), dias para o parto (DPP), (PINTO, 1994).

Algumas dessas características se apresentam pelo fenótipo, que representa o valor que medimos em um animal e ele é constituído por um valor genótipo mais o efeito do ambiente no qual o animal se encontra. Podemos mensurar o fenótipo através do peso a desmama, o ganho de peso e em quilos de leite produzido por um animal, por exemplo, (ALBUQUERQUE et al., 2003).

Contudo, sabe-se que o desempenho de um animal em relação ao ganho de peso tem relação direta com o valor alimentar de sua dieta. Entretanto, existe um limite de desempenho para cada indivíduo, fator esse que é caracterizado pela sua genética, escore corporal e grau de acabamento. Dentre os principais fatores para tal limitação, podemos citar a composição relacionada ao ganho de peso vivo e a capacidade de ingestão de energia digestível. Segundo Boin (1999), quanto maior a capacidade de ingestão de alimento e menor a proporção de deposição de gordura no ganho de peso vivo, melhor será o seu desempenho em ganho de peso.

Um exemplo da afirmação anterior é de que raças taurinas quando consumindo dietas com altos níveis nutricionais apresentam maior potencial para ganho de peso comparado às zebuínas Lopes e Sampaio (1999).

A cada ano que se passa aumenta-se a importância de se ter raças geneticamente superiores, visando à produção de novilhos precoces (SILVEIRA, 2003). São desejados entre estas qualidades o rendimento de cortes cárneos (BOLEMAN et al., 1998), uma vez que, o valor do animal tanto para os processos quanto para o produto é determinado através da carcaça do animal, sendo que esta, se torna a unidade mais importante nos estudos sobre desempenho de bovinos (BERG; BUTTERFIELD, 1976).

A avaliação da característica para ganho de peso é expressa em quilos, o ganho potencial devido à ação dos genes que o animal apresenta no período desejado, demonstra o potencial de velocidade de ganho de peso e tem sido considerado muito importante pelos produtores que fazem a terminação em animais a pasto e em confinamento, pois demonstra o desempenho potencial nestes sistemas de criação. Este ganho de peso, somado ao peso a desmama, define o peso ao sobreano, este é o melhor indicador do peso adulto dos animais uma vez que esta é a última fase do animal antes da engorda e as DEP's mais elevadas são as mais indicadas (BARBOSA, 1999).

Outra característica importante na utilização da DEP ao sobreano, é que esta seleção não contabiliza o efeito materno que pode ser encontrado em outras DEPs, ou seja, não há contribuição no fenótipo do animal que seja atribuível diretamente ao fenótipo ou comportamento de sua mãe.

Segundo McGilchrist et al. (2016), a seleção direcionada ao aumento da musculabilidade, normalmente é conduzida em detrimento da deposição de gordura e pode estar relacionada a mutações da miostatina. Neste sentido, entende-se que a seleção para características de crescimento também pode estar relacionada com outras características do animal, como por exemplo, desempenho e qualidade de carne, assim como o metabolismo do animal.

Admite-se que a genética pode alterar o metabolismo (NICHOLSON; LINDON, 2008), e consequentemente este acarretar em melhoras no desempenho ou causar desequilíbrio entre os metabólitos levando a efeitos não desejados. Ambos os

resultados podem estar relacionados a saúde e ao desempenho zootécnico, contudo, poucos são os trabalhos encontrados na literatura relacionando aos valores de DEP com as características metabólicas do indivíduo.

2.3 *Estudo Metabolômico do Desempenho Animal*

Estudos têm demonstrado que existe diferença fenotípica entre animais com diferentes DEP para diversas características de interesse econômico, especialmente taxas de crescimento animal (BOLIGON et al., 2006; DIKEMAN et al., 2005; FERNANDES; FERREIRA, 2000; SAPP et al., 2002). Uma possível explicação para essas diferenças de desempenho entre indivíduos é que essas características podem estar relacionadas com as alterações no metabolismo dos animais. Esses processos bioquímicos que ocorrem nas células dos organismos vivos e geram uma grande variedade de compostos conhecidos como metabólitos (DIXON, 2001). Os metabólitos podem atuar como substratos na próxima etapa dos processos bioquímicos, ou então, podem ser excretados do organismo na forma de resíduo, ou ainda serem estocados podendo ser utilizado, por exemplo, como defesa química contra algum patógeno (DEMAIN; VAISHNAV, 2002). Deste modo, cada um desses processos pode gerar alterações nos níveis de um ou de vários metabólitos simultaneamente, deste modo podemos estudá-las através de processos metabólicos.

Em 1999, o termo metabolômica foi definido como a “medida quantitativa da resposta metabólica dinâmica e multiparamétrica dos sistemas vivos a estímulos patofisiológicos ou a modificações genéticas”. Mais tarde, em 2001, o termo “metabolômica” foi definido por novos cientistas de forma ligeiramente diferente como “a análise quantitativa e abrangente de todos os metabólitos num sistema”.

Os metabólitos são divididos em dois grupos: os metabólitos primários e secundários. Os que pertencem ao grupo primário são aqueles que estão diretamente envolvidos nas rotas de síntese e degradação das macromoléculas em qualquer ser vivo (DIXON, 2001). Já os secundários são mais comuns em plantas e fungos (CHALLIS; HOPWOOD, 2003; HALL, 2006).

As novas pesquisas sobre o tema estão sendo empregadas em diversas áreas como a farmacêutica, ecologia, filogenética e na nutrição tanto animal quanto

humana aonde se pretende conhecer os efeitos de substâncias que não tenham efeito nutricional e que estão presentes no alimento e sua ação no indivíduo, assim como entender os efeitos causados pela falta ou excesso de um determinado nutriente na manutenção ou no desenvolvimento do indivíduo (GIBNEY et al., 2005; GERMAN; WATKINS; FAY, 2005; WATKINS et al., 2001).

O estudo metabolômico traz o conhecimento das bases biológicas, que explicam variação no crescimento de indivíduos da mesma raça, as quais ainda são pouco exploradas. O que se pretende com essas avaliações é detectar mudanças na distribuição e concentração de uma larga gama de metabolitos em matrizes biológicas e tecidos, recorrendo principalmente, ao uso de tecnologias baseadas em espectroscopia.

Através do estudo da RMN, é possível identificar os metabólitos que estão relacionados com as características de interesse econômico, esta é uma ferramenta importante para identificar tanto os metabólitos como observar a sua dinâmica (GIBNEY et al., 2005; ORESIC, 2009; OSORIO et al., 2012).

Na análise metabolômica é verificado a concentração dos metabólitos, gerando a possibilidade de associar os metabólitos com as características de interesse dos produtores. O sangue é um dos biofluidos mais importantes para a metabolômica, através dele é possível observar os metabólicos mais instantâneos que transmitem informações sobre a dinâmica dos nutrientes e de seus metabólitos no metabolismo, sendo o plasma, o tipo de amostra que mais se adapta ao estudo de redes biológicas de micronutrientes.

Com os resultados do perfil metabolômico do plasma e sua diferença para animais selecionado de acordo com a característica desejada, podemos identificar e correlacionar os metabólitos com a característica escolhida. Tais pesquisas nos trazem maior conhecimento das bases metabolômicas responsáveis por cada característica, identificando quais são os metabólitos que acarretam o aparecimento delas.

2.4 *Metabólito de interesse*

A glicose é um dos carboidratos mais importantes na biologia. As células a usam como fonte de energia e como um intermediário metabólico, utilizada como

combustível para a oxidação respiratória. De acordo com González et al. (2000) os níveis de glicose plasmática, são utilizados como possível indicador do perfil para avaliar o status energético, porém devido sua à sensibilidade ao estresse, mudanças nutricionais e à insensibilidade da glicemia os valores podem ser um pouco menos expressivos.

Como se sabe em ruminantes, grande parte da glicose é sintetizada no organismo, sendo o fígado o órgão responsável pela sua síntese por meio de moléculas precursoras da via gliconeolítica. As moléculas utilizadas na gliconeogênese são o propionato (50%), aminoácidos glicogênicos (25%), ácido láctico (15%) e o glicerol (5%) (GONZÁLEZ; SILVA, 2006). Desta forma pouca glicose proveniente da dieta entra na corrente sanguínea.

Os principais mecanismos que controlam os níveis de glicose sanguínea são os hormônios, insulina e glucagon sobre o glicogênio e os glicocorticóides sobre a gliconeogênese.

A arginina é outro importante metabólito responsável pela liberação de vários hormônios como a insulina e hormônios de crescimento. A sua degradação produz óxido nítrico, poliaminas, prolinas, glutamatos, creatinas e agmatina. O óxido nítrico tem a função de criar uma vasodilatação no músculo esquelético. Isso aumenta o fluxo de sangue e nutrientes para o músculo, favorecendo a síntese de proteínas e ainda aumentam a taxa de filtração glomerular. Outras duas importantes funções do óxido nítrico no organismo são de ser um neurotransmissor e estimular a resposta imunológica, auxiliando na destruição de micro-organismos, parasitas e células tumorais (MATEO et al., 2007, 2008).

A creatinina é uma substância proveniente da degradação de creatina fosforilada (ou fosfocreatina) e vem sendo proposta como um marcador de a massa muscular em um estado estacionário (RENNIE; MILLWARD, 1983; VIRGILI et al., 1994).

A creatina é um aminoácido não essencial formado endogenamente ou obtido por meios exógenos, através da alimentação. Quando endógena, ela é sintetizada pelo fígado, pâncreas e rins que, a partir da glicina e da arginina, transportam através de processos enzimáticos o grupo amina da arginina para a glicina, resultando em um composto chamado guanidinoacetato e a ornitina. Através da

cessão do grupo metil da S-adenosilmetionina no guanidinoacetato, forma-se a creatina. Livremente, ela é captada pelo tecido muscular (sendo que o mesmo armazena em média 95% de creatina) e imediatamente é fosforilada, formando o que conhecemos como Creatina Fosfato ou PCr. Atualmente pode-se fazer uma associação, onde a Creatina vem sendo estudada na suplementação de atletas, devido este aumentar o ganho de performance e massa muscular para atividades de explosão muscular não-aeróbicas (VOLEK et al., 1997; ZIEGENFUSS et al., 1997).

Corroborando com os resultados encontrados com humanos, estudos em bovinos demonstram que a creatina plasmática está correlacionada com o aumento no ganho de peso (WEIKARD et al., 2010; CÔNSOLO et al., 2016; CÔNSOLO et al., 2015). A quantidade de creatina formada depende da ingestão alimentar, taxa de síntese de creatina e massa muscular. O nível de massa muscular e de atividade fisiológica podem influenciar a taxa de produção de creatinina e a sua concentração no plasma. Por outro lado, estudos demonstram que a creatina é relativamente constante, sendo pouco afetada pela alimentação e principalmente pelo consumo de proteína (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008). Os níveis sanguíneos são pouco afetados pela dieta, podendo desse modo a creatina ser usada como referência da genética de cada indivíduo. Pode-se ressaltar que em animais mais atléticos e ou de maior massa muscular a concentração tende a ser maior.

A prolina é uma substância reguladora de múltiplos processos bioquímicos e fisiológicos das células, reguladora da expressão gênica e diferenciação celular. Pertence a constituição dos aminoácidos das proteínas do colágeno e tem um papel importante na síntese proteica e estrutural no metabolismo, na nutrição, regeneração de tecidos, reações antioxidantes e resposta imunitária. As necessidades fisiológicas do aminoácido prolina são elevadas. Por ser um aminoácido não essencial a maioria dos mamíferos consegue sintetizá-la a partir da arginina e glutamina/glutamato (DEVLIN, 2011).

Quando entram nas células, os aminoácidos possuem dois caminhos, se transformarem em proteína ou se tornarem fonte de energia. De modo geral, os aminoácidos são requisitados para realizar a síntese de proteína ou de outros metabólitos. Baseados nos metabólitos, esses aminoácidos possuem 3 classificações (BERCHIELLI; PIRES; OLIVEIRA, 2006):

- Os cetogênicos são metabólitos precursores para a síntese de ácido graxo e a Leucina é o único aminoácido representado nesse grupo;
- Os glucogênicos são representados pela alanina, arginina, aspargina, cisteína, glutamina, histeína, metionina, prolina, serina, treonina e valina. Esses metabólitos são reconhecidos como poderosos precursores na síntese de glicose;
- O terceiro grupo é classificado em cetogênicos e glucogênicos, ou seja, antecessor de ácidos graxos e glucose, esse grupo é retratado pela isoleucina, lisina, fenilalanina, treonina e tirosina.

Dentre os diversos aminoácidos, podemos citar como não essenciais: a alanina, ácido aspártico, asparagina, cisteína, ácido glutâmico, glutamina, glicina, prolina, serina e tirosina.

Estudos, indicam os metabólitos como biomarcadores para prever características econômicas na produção animal, como é o caso da leptina, a qual é um hormônio peptídico com um peso molecular de 16 kDa, que apresenta uma estrutura terciária semelhante a alguns membros da família das citocinas (NEGRÃO; LICÍNIO, 2000; ROMERO; ZANESCO, 2006). É produzida principalmente pelos adipócitos, sendo que o tecido adiposo branco é responsável pela maior parte da leptina produzida pelo organismo. Porém outros órgãos produzem leptina em menor quantidade: epitélio gástrico (estômago), trofoblasto placentário (placenta), tecido adiposo marrom, músculo esquelético e glândula mamária. Desta forma a sua concentração pode variar de acordo com a quantidade de tecido adiposo (CHILLIARD et al., 1998; JI et al., 1998; MINTON et al., 1998), tendo um pico de liberação que ocorre durante a noite e nas primeiras horas da manhã, e sua meia-vida plasmática é de 30 minutos (NEGRÃO; LICÍNIO, 2000).

Como outro metabólito relacionado às características de interesse econômico pode citar a colina, que é um composto necessário para atingir o crescimento ideal. A colina faz parte do complexo B de vitaminas e está relacionada com o crescimento estrutural celular, o metabolismo lipídico no fígado, desenvolvimento do cérebro e funções no sistema nervoso, doador de metis para a formação de metionina (betaína) e atua como fonte osmótica para a regulação celular

(glicerofosfocolina). Recentemente a colina vem sendo ligada a novas funções e aspectos, como os efeitos de perda de peso e promover uma redução no percentual de gordura corporal, podendo ainda inibir o ganho de peso. A deficiência da colina leva a problemas de mobilização de gordura hepática pela redução das lipoproteínas transportadoras, ricas em lecitina, que contém a colina (ZEOULA; GERON, 2006). Este composto pode ser fornecido na dieta ou sintetizado pelo animal através da metionina.

Dois importantes substratos para síntese proteica e precursores anabólicos do crescimento muscular, são os aminoácidos glutamina e glutamato. A glutamina é o aminoácido livre mais abundante no fluído extracelular, além de ser precursora da síntese de aminoácidos, nucleotídeos, ácidos nucleicos, açúcares aminados (SMITH, 1990). Os dois compostos atuam como combustível oxidativo para os intestinos e células do sistema imunitário, transportam nitrogênio entre órgãos e são precursores da síntese de neurotransmissores, de nucleotídeos e ácidos nucleicos.

Um importante metabólito que circula no sangue é a ureia, sendo esta produzida no fígado a partir da amônia proveniente do catabolismo dos aminoácidos e da reciclagem de amônia no fígado. Os níveis de ureia irão variar de acordo com o nível de proteína da dieta e do funcionamento renal (VALADARES; VALADARARES FILHO; GONÇALVES, 1997).

Relembrando que em ruminantes, os compostos nitrogenados provenientes da dieta são degradados em amônia pelos microrganismos no rúmen. Esta amônia que não é utilizada para a síntese de proteína microbiana é rapidamente absorvida pelo epitélio ruminal (NOLAN; MACKIE, 1993) até o sangue, e chega assim ao fígado onde há a formação de ureia (VISEK, 1979). Desta forma a ureia por não ser tóxica e ainda hidrossolúvel, circula no sangue até sua excreção principalmente pela urina, e em menor grau pelo intestino e no leite. Outra rota da ureia nos ruminantes é a reciclagem via saliva ou por difusão na parede ruminal (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008).

Neste contexto, é importante salientar que, para ocorrer excreção destes compostos nitrogenados, existe um gasto de energia para o animal. Se a excreção não ocorrer de forma eficiente pode ocorrer aumento na produção de amônia e de ureia, quando ocorre essa ineficiência o animal reduz o consumo de forma a reduzir

a produção de amônia e consequentemente de ureia, como resposta se tem depressão no desempenho dos animais (DUNCAN; PRASSE, 2003).

Alguns autores vêm relacionando a ureia há degradação da proteína e outros trabalhos também reportam que a ureia é um metabólito plasmático que tem correlação positiva com a degradação de proteína muscular (VAN BIBBER-KRUEGER et al., 2015), e negativamente com a porcentagem de tecido magro na carcaça (BRAKE; TITGEMEYER; JONES, 2011).

Nesse contexto, é possível notar que os metabolitos estão completamente ligados às respostas fisiológicas, podendo ser utilizados como marcadores de características de interesse econômico. O metaboloma já está sendo usado na avaliação e/ou predição de características de produção, como o consumo alimentar residual (CAR). Karisa et al. (2014) e Widmann et al. (2015) relataram um total de 95% da variação do CAR pela variação dos metabólitos no plasma de bovinos de corte. No entanto, não existem trabalhos que relatam o impacto da seleção animal para crescimento com o perfil metabolômico de bovinos.

2.5 ANÁLISE DE METABÓLITOS PARA CARACTERÍSTICAS DE INTERESSE ECONÔMICO

O uso de metodologias e equipamentos específicos são necessários para caracterizar e quantificar os metabólitos. Portanto, a metabolômica engloba diversas tecnologias analíticas que necessitam ser selecionadas de acordo com as características de cada classe dos compostos, da via metabólica de interesse ou da questão biológica que deve ser respondida em suas análises.

Os trabalhos iniciais desenvolvidos no campo da metabolômica aconteceram na década de 80. Esses trabalhos foram realizados utilizando espectrometria de massas com ionização branda (VANDERGREEF, 1986), cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) (TANAKA; HINE, 1982) técnica que soma as vantagens da espectrometria de massa (obtenção de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da seletividade) com as vantagens da cromatografia (alta seletividade e eficiência de separação) e também eram utilizadas técnicas com espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) (NICHOLSON; BUCKINGHAM; SADLER, 1983) a qual é altamente seletiva e não destrutiva (LINDON; NICHOLSON, 2008).

Com o avanço dos estudos, vêm se considerando novas estratégias visto que as análises devem ser consideradas como um ponto crítico para os resultados da metabolômica (BEDAIR; SUMNER, 2008; LEI; HUHMAN; SUMMER, 2011). As novas técnicas baseadas em espectrometria de massa, por exemplo, são direcionadas para oferecer uma combinação de sensibilidade e seletividade (LEI; HUHMAN; SUMMER, 2011).

Novas tecnologias como a ressonância magnética nuclear (RMN) vêm se destacando (NICHOLSON; LINDON; HOLMES, 1999). A análise metabolômica pode ser dividida em duas categorias: “Targeted” (DUDLEY et al., 2010) onde busca-se encontrar moléculas já pré-determinadas. Este método está relacionado a metabolômica quantitativa, quando os metabólitos após detectados são também quantificados. O outro método “Untargeted” (DE VOS et al., 2007), ou “Non-Targeted” (LIN et al., 2011), é a categoria onde se encontra uma relação total dos metabólitos presentes no sistema e está relacionada a metabolômica qualitativa. Através desta última análise é possível comparar os metabólicos que estão relacionados com uma possível característica de interesse e então utiliza-los como marcadores.

A partir da análise em RMN, pode-se identificar centenas de metabólitos em uma única amostra, já que o método constitui em se obter imagens de espectra, que são coletadas rapidamente de maneira muito eficiente (BECKWITH et al., 2003; KARISA et al., 2014). A amostra é colocada dentro da sonda de RMN que fica no centro de uma bobina supercondutora, resfriada por nitrogênio e hélio líquido. Desse modo, a amostra fica sujeita a pulsos de ondas de rádio. Um computador central comanda o equipamento, enviando, captando e processando os sinais de RMN, imagens são geradas com base na forma que cada amostra reage com o campo magnético e com as ondas de rádio, (Figura 1).

Figura 1 - Diagrama esquemático de um espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN)

Fonte: COLNAGO, L. A.; ALMEIDA, F. C. L.; VALENTE, A. P. Espectrometria de massas e RMN multidimensional e multinuclear - revolução no estudo de macromoléculas biológicas. **Química Nova na Escola**, São Paulo, v. 1, n. 16, p. 9-14, 2002.

O estudo aumenta o conhecimento das bases metabolômicas ligadas às características de interesse de maneira mais rápida. A avaliação dos metabólitos do plasma é capaz de melhorar a compreensão dos metabólitos e identificar os metabólitos chave e então, correlacionar com a deposição proteica, que afinal, influencia no crescimento.

Portanto, podemos observar que os estudos da metabolômica, são ferramentas fundamentais para gerar informações que possibilitem orientar os sistemas de produção a obter um produto final que atenda as exigências dos consumidores, produtores e da indústria.

Neste sentido, podemos ressaltar que os resultados obtidos pelas análises metabolômicas facilitarão o entendimento de como o genótipo de um indivíduo está relacionado com o seu fenótipo (BINNECK, 2004; FUKUSAKI; KOBAYASHI, 2005).

Este trabalho propõe um amplo estudo, identificando e quantificando os metabólitos do plasma através de análises realizadas por RMN para posteriormente correlacioná-los com o crescimento dos animais.

3 HIPÓTESE

As hipóteses do estudo:

- Diferentes potenciais genéticos de crescimento pós- desmama, alteram o crescimento durante a terminação e consequentemente o perfil metabolômico do plasma dos animais;
- A metabolômica pode ser utilizada para encontrar metabólitos marcadores para características de crescimento em função da seleção de animais com diferentes potenciais genéticos.

4 OBJETIVO

Caracterizar e quantificar os metabólitos do soro de bovinos Nelore, com divergentes potenciais genético para crescimento.

Especificamente, objetiva-se:

- I. Identificar os metabólitos plasmáticos por RMN;
- II. Quantificar os metabólitos e correlacioná-los com o desempenho animal;
- III. Identificar possíveis metabólitos como marcadores biológicos das características em questão.
- IV. Avaliar se o desempenho animal durante a terminação é influenciado pelos diferentes potenciais genéticos de crescimento pós-desmama.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Local e Animais

O experimento foi conduzido na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos presente na Universidade de São Paulo *campus* Pirassununga-SP.

Utilizou-se 74 machos inteiros da raça Nelore, com idade média de 20 meses e 410 ± 30 kg de peso vivo no início do período experimental, sendo os animais pertencentes a dois rebanhos, ambos com programa de melhoramento genético para característica de crescimento. Foram utilizados 50 animais pertencentes ao rebanho 1 e 24 animais pertencentes do rebanho 2. Ambos os rebanho foram divididos em animais com diferentes potenciais genéticos de crescimento pós-desmama, sendo divididos em duas intensidades alto e baixo potencial genético para crescimento. Os animais foram avaliados para essa característica em função do crescimento pós-desmama, de 7 até 18 meses de idade. Os animais foram mantidos em pastejo contínuo com suplementação no período das secas. Para avaliação, os animais foram pesados periodicamente a aos 18 meses, a partir disso, foi realizado um procedimento matemático referente a diferença esperada na progênie (DEP) e então dois grupos foram formados, o de alto e baixo potencial genético para crescimento. A média das DEP dos grupos em função da origem está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 – Média da DEP para os animais com maior e menor DEP para crescimento pós desmama ao sobreano.

	DEP	
	Alta	Baixa
Rebanho 1	9,8 kg	1,6 kg
Rebanho 2	5,6 kg	1,8 kg
Média	7,7 kg	1,7 kg

Fonte: Própria autoria.

Os animais foram alojados em confinamento experimental de acordo com o peso inicial. Metade dos animais foram distribuídos em quatro baias contendo portões eletrônicos (*Calan Gates*) que permitem o controle individual da alimentação, e a outra metade, distribuídos em baias individuais.

Antes do início do período experimental, todos os animais passaram por um período de 21 dias para adaptação às instalações e à dieta. O alimento foi fornecido

duas vezes ao dia, na forma de ração total. A alimentação realizada diariamente com uma dieta contendo 73% de concentrado e 27% de volumoso (Tabela 2). O ajuste da oferta de alimento era realizado diariamente com base na avaliação das sobras do dia anterior, com uma oferta de matéria seca 10% superior ao consumo observado para assegurar que não houvesse falta ou excesso de alimento no cocho.

Tabela 2 – Composição percentual da dieta utilizada (na matéria seca)

INGREDIENTES	% da Matéria seca
Silagem de milho	27,3
Sorgo Grão Moído	23,0
Milho Grão Seco Moído	20,0
Polpa Cítrica	20,0
Farelo de Soja 45%	8,0
Ureia	0,9
Sal Comum	0,2
Suplemento Mineral para Mistura ¹	0,6
NUTRIENTES	
Proteína Bruta, %	13,8
Proteína Degradável no Rúmen, %	9,2
NDT, % ²	75,7
Cálcio	0,64
Fósforo	0,40

¹ Minerthal 160 MD (Composição: Carbonato de Cálcio, Fosfato Bicálcico (86,5%), Iodato de Cálcio, Óxido de Zinco, Selenito de Sódio, Sulfato de Cobalto, Sulfato de Cobre, Enxofre Ventilado (Flor de Enxofre), Monensina Sódica e Sulfato de Manganês.);

² - Estimado através de fórmula de Weiss, Conrad e Pierre (1992).

Fonte: Própria autoria

5.2 Desempenho

Após o período de 21 dias de adaptação (d0) os animais foram pesados com jejum sólido de 18 horas, e esse manejo se repetiu a cada 28 dias (d28, d56, d84 e d112). O ganho médio diário (GMD) foi calculado por meio de regressão linear usando o tempo e o peso vivo individual, através da equação: $GMD = (\text{Peso Final} - \text{Peso inicial}) / \text{dias}$. Todas as pesagens foram realizadas após jejum de sólidos de aproximadamente 18 horas.

5.3 Parâmetros sanguíneos

A coleta de soro foi realizada no dia anterior ao abate, (juntamente com o manejo de pesagem) por punção da veia jugular, anterior ao fornecimento das rações no período da manhã. As amostras coletadas em tubos do tipo *vacutainer* sem reagentes. Logo após a coleta, o sangue foi centrifugado a 3.000 rpm durante 15 minutos. O plasma foi pipetado e armazenado em tubos *ependorf* a -80°C e posteriormente foram identificados e quantificados os metabólitos em ressonância magnética nuclear (RMN).

5.4 Análise em RMN de alto campo (600MHz)

O perfil metabolômico das amostras de plasma foram determinados utilizando a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de alta frequência nas dependências da Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP. O preparo do plasma seguiu protocolo previamente descrito por Beckonert et al. (2007). As amostras de plasma após descongeladas, foram pipetados 200 µL da amostra e 400 µL de solução salina a 0,9% e marcador em micro tubos de 2 mL, homogeneizados e centrifugados por 12.000 rpm por 5 minutos. Posteriormente, 550 µL da amostra preparada foram transferido para os tubos de 5 mm de RMN e transferidos para o aparelho de 600 MHz para aquisição dos espectros.

6 ANÁLISE DE DADOS

A análise quimiométrica dos dados foi realizada no Software MatLab (R2010), onde foi utilizado o procedimento matemático de Principal Componente de Análise (PCA). Posteriormente, a identificação e quantificação dos metabólitos de cada espectro do plasma foi realizada através software Chenomix RNM suíte 7.7. Primeiramente os espectros foram processados individualmente para ajuste da linha de base, identificação do marcador interno e ajuste do mesmo à 0 ppm. A partir daí os espectros seguiram para identificação e quantificação dos picos. Os valores quantitativos obtidos em cada metabólito foram analisados utilizando o SAS 9.1 (SAS Institute Inc. Cary, USA). Os dados foram analisados por ANOVA de acordo com delineamento inteiramente casualizado, considerando-se no modelo o efeito fixo do tratamento (alto e baixo potencial genético para crescimento). Em todas as comparações, a significância declarada foi de $P \leq 0,05$.

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período da recria, momento em que ocorreu o teste de seleção genética para crescimento (pós desmama ao sobreano), o ganho de peso dos animais do rebanho 1 de alto potencial para crescimento, para essa característica foi 323 g/dia ($P < 0,0001$; Figura 2) e o peso vivo ao sobreano foi de 54 kg maior ($P = 0,05$; Figura 3) comparado aos animais de baixo potencial para crescimento, evidenciando diferenças fenotípicas entre os grupos nesse momento. No entanto, no período de terminação, não houve efeito da seleção genética para o crescimento, sendo de 1,51 kg/dia e 1,48 kg/dia para animais de alto e baixo crescimento, respectivamente no rebanho 1 e 1,33 kg/dia e 1,24 kg/dia para animais de alto e baixo potencial para crescimento, respectivamente no rebanho 2 (Figura 2). Nota-se, porém, no rebanho 1 maior peso vivo ao final do período de 35 kg ($P = 0,004$) para os animais de alto potencial para crescimento (Figura 3), porém essa diferença se deve ao maior peso vivo no início do confinamento, já que os animais de alto potencial de crescimento iniciaram a terminação com 22 kg a mais que os de baixo potencial e não tiveram diferença no desempenho durante a terminação. Já no rebanho 2, o PVi e PVf foram muito semelhantes entre os animais de divergentes potenciais (Figura 3). Dessa forma, devido ao desempenho semelhante entre grupos genéticos, sugere-se que o metabolismo dos animais foi similar, resultando em respostas fenotípicas e metabólica similares.

Figura 2 – Ganho médio diário em kg/dia. A cor azul representa os animais de alto potencial para crescimento e a cor negra os animais de baixo potencial para crescimento.

Fonte: Própria autoria.

Figura 3 – Média de peso vivo e peso de carcaça quente. A cor azul representa os animais de alto potencial para crescimento e a cor negra os animais de baixo potencial para crescimento

Fonte: Própria autoria.

Clarke et al. (2009) trabalhando com DEP para algumas características de interesse econômico em diferentes raças de bovinos de corte relatam que a DEP de

características da desmama e recria podem não representar diferenças para peso final, carcaça e rendimento dos cortes. Uma vez que a diferença entre os animais se encontra no período de seleção dos mesmos, nesse caso desmama e recria. Grizard et al. (1995) em amplo estudo sobre crescimento animal, também relatam que as diferenças entre características de seleção ocorrem no período em que são avaliadas, podendo não se manter após o período de seleção.

Análise de componentes principais (PCA) foi realizada com o perfil metabolômico do plasma de animais de ambos os rebanhos de dois diferentes grupos de alto potencial para crescimento e baixo potencial para crescimento. De modo geral, o PCA é uma análise exploratória dos dados, possibilitando observar grupamentos em função dos tratamentos. Essa análise pode ser realizada utilizando a janela espectral inteira ou fracionada, as figuras 2 e 3 apresentaram o PCA dos dados dos Rebanhos 1 e 2 respectivamente. Os dados apresentados referem-se à janela espectral por completo. Foram feitos testes com o fracionamento dos espectros e também com a integração dos picos, porém como nenhum grupo em função dos tratamentos foi encontrado, decidiu-se apresentar o PCA referente a janela espectral de 0,2 a 9 ppm. Para o Rebanho 1 (Figura 4) os dois componentes principais (PC 1 e PC 2) explicam 64,04% da variação das amostras, sendo 41,48% pela PC1 e 22,56% pela PC2. Já para o rebanho 2 (Figura 5), os dois componentes principais explicam 83,04% da variação das amostras, sendo 68,26% pela PC1 e 14,75% pela PC2.

Figura 4 – Análise dos principais componentes referente ao metaboloma do plasma dos animais provindo do rebanho 1.

Grupos: grupo 1 (círculo preenchido) representa o grupo de animais com alto potencial para crescimento e o grupo 2 (*) representa os animais com baixo potencial para crescimento.

Fonte: Própria autoria

Figura 5 – Análise dos principais componentes referente ao metaboloma do plasma dos animais provindo do rebanho 2.

Grupos: grupo 1 (círculo preenchido) representa o grupo de animais com alto potencial para crescimento e o grupo 2 (*) representa os animais com baixa potencial para crescimento.
 Fonte: Própria autoria.

No presente estudos, não houve formação de grupos no PCA em função do potencial de crescimento dentro de cada rebanho, o que nos mostra semelhança no metaboloma dos animais com divergentes potenciais para crescimento. Esses resultados podem ser explicados devido ao desempenho semelhante dos animais durante o período de terminação independente da origem dos rebanhos onde não foi observada diferença no ganho médio diário (GMD) em função dos diferentes potenciais durante todo período experimental para os animais 1 e 2 (Figura 5).

As Figuras 6 e 7 mostram partes das janelas espectrais com a identificação de alguns picos e seu deslocamento químico, do plasma dos animais desse estudo. Conforme descrito, os metabólitos foram identificados com base na atribuição dos sinais no espectro de RMN de ^1H e, utilizando um padrão para quantificação. Foram identificados um total de 36 metabólitos distintos nas amostras de plasma, correspondentes ao metabolismo energético e proteico.

Figura 6 – Identificação dos picos de espectro da análise plasmática de bovinos de ambos os grupos com alta e baixa DEP, representando a janela espectral de 0,8 a 2,6 ppm

Fonte: Própria autoria

Figura 7 – Identificação dos picos de espectro da análise plasmática de bovinos de ambos os grupos com alta e baixa DEP, representando a janela espectral de 3,05 a 4,10 ppm

Fonte: Própria autoria

Na Figura 8 estão os picos isolados em função do deslocamento químico de diferentes metabólitos que foram encontrados no plasma dos bovinos com DEP contrastantes, utilizando a RMN de ^1H . Os espectros são agrupados para diferentes gamas de ppm de 0 ± 5 ppm e 0 ± 10 ppm.

Figura 8 - Padrões espectrais para cada metabólito usando os parâmetros de RMN medidos experimentalmente. Os espectros são agrupados para diferentes gamas de ppm de 0 ± 5 ppm e 0 ± 10 ppm

Figura 8 - Padrões espectrais para cada metabólito usando os parâmetros de RMN medidos experimentalmente. Os espectros são agrupados para diferentes gamas de ppm de 0 ± 5 ppm e 0 ± 10 ppm

Fonte: Govindaraju, Young e Maudsley (2000).

De modo geral, não houve efeito da seleção genética ao sobreano para nenhum dos metabólitos avaliados ao final da terminação em ambos os rebanhos (Tabela 3 e 4). Houve apenas uma tendência ($P = 0,089$) para maior creatinina no plasma dos animais de alta DEP pertencentes ao rebanho 1.

Tabela 3 - Concentração dos metabólitos plasmáticos ($\mu\text{mol/L}$) obtido pela $^1\text{H-NMR}$ em bovinos Nelore do rebanho 1 com divergente potencial genético para crescimento.

Metabólitos ($\mu\text{M/L}$)	Potencial para Crescimento		EPM	P-Valor
	Alto	Baixo		
Ureia	4.970	5.320	22,41	0,237
Glicose	5.115	6.098	13,17	0,110
Lactato	902,50	823,44	32,14	0,872
Acetato	723,40	699,7	22,81	0,776
Piruvato	328,22	426,31	47,39	0,102
Glicerol	982,2	756,70	27,44	0,156
Adenosina	86,99	63,22	8,24	0,302
Anserina	82,3	66,43	4,02	0,310
BHB	155	182,9	6,33	0,112
Creatina	150,89	132,2	12,59	0,216
Creatina fosfato	77,03	63,44	3,44	0,316
Creatinina	168,00	122,3	9,51	0,089
Ribose	138,22	154,67	15,8	0,146
Betaína	230,88	199,5	16,72	0,328
1-metilhistidina	47,60	22,90	8,22	0,179
Acetona	71,07	97,89	11,23	0,315
Formato	33,4	27,89	1,25	0,373
Carnitina	63,79	47,97	2,44	0,191
Carnosina	35,66	31,9	1,98	0,279
Uridina	12,00	16,2	0,94	0,834
Succinato	188,70	192,33	7,44	0,404
Colina	430,00	476,9	10,25	0,227
Hipurato	32,00	19,56	3,02	0,122

Fonte: Própria autoria

Tabela 4 - Concentração dos metabólitos plasmáticos ($\mu\text{mol/L}$) obtido pela $^1\text{H-NMR}$ em bovinos Nelore do rebanho 2 com divergente potencial genético para crescimento.

Metabólito (µM/L)	Potencial para		EPM	P-Valor
	Crescimento			
	Alto	Baixo		
Ureia	4.225	4.976	17,68	0,134
Glicose	6.482	6.225	22,54	0,235
Lactato	783,12	643,5	31,64	0,458
Acetato	657,2	546,2	15,87	0,662
Piruvato	345,6	389,5	16,8	0,397
Glicerol	568,5	598,34	22,5	0,284
Adenosina	72,33	70,54	7,94	0,335
Anserina	82,3	66,43	5,57	0,643
BHB	109,3	122,5	7,83	0,435
Creatina	132,5	145,8	9,64	0,158
Creatina fosfato	67,5	61,22	2,54	0,473
Creatinina	141,2	135,2	9,11	0,224
Ribose	138,22	154,67	10,35	0,241
Betaína	200,58	187,36	12,54	0,115
1-metilhistidina	31,25	22,13	7,32	0,356
Acetona	62,35	75,86	3,64	0,348
Formato	22,51	17,5	2,54	0,234
Carnitina	85,3	67,94	3,24	0,137
Carnosina	32,56	30,24	1,65	0,116
Uridina	10,34	12,55	1,58	0,843
Succinato	195,34	202,34	14,65	0,687
Colina	324,15	345,6	13,22	0,338
Hipurato	32,56	27,54	2,41	0,483

Fonte: Própria autoria

A glicose, ureia, ácido láctico, acetato e glicerol foram os metabólitos mais abundantes encontrados no plasma. Ghaffari et al. (2017) trabalhando com bezerros encontraram os mesmos metabólitos em maiores concentrações no metaboloma desses animais, independente do momento da coleta, antes ou após a alimentação.

A glicose é um dos metabólitos sanguíneos que auxilia na determinação do status energético do animal. Os ruminantes são capazes de manter a glicemia através da constante gliconeogênese, que ocorre a partir de diversos substratos, tais como o propionato e aminoácidos. Cònsolo et al. (2015) encontraram menor concentração de glicose plasmática em bovinos Nelore com maiores taxas de ganho de peso comparado aos de menores taxas de ganho de peso. Os autores explicam

que maior taxa de crescimento gera maior demanda de energia para crescimento corporal e produção da musculatura. Em adição, Reynolds et al. (2006) também relatam que a taxa de demanda da glicose depende além da dieta da taxa de crescimento animal. No presente estudo, devido à seleção para maior crescimento, esperava-se menores taxas de glicose, devido à maior demanda de energia para crescimento, porém como já relatado anteriormente, o desempenho dos animais não foi influenciado pela DEP, dessa forma, não se observou efeito para esse metabólito.

O acetato, propionato, butirato, lactato e outros ácidos orgânicos consistem em um dos principais produtos finais da fermentação microbiana no rúmen (RINTTILÄ; APAJALAHTI, 2013). Independentemente do tipo de dieta, o acetato é o constituinte de maior quantidade no total de AGCCs produzidos no rúmen, e sua maior parte provém de reações fosforoclásticas, sendo sua variação dependente do tipo de microrganismos (BERCHIELLI; PIRES; OLIVEIRA, 2006), sua formação resulta em máximo de ATP para a bactéria, favorecendo o crescimento animal (KOZLOSKI, 2011).

O ATP/ ADP/ AMP, respectivamente adenosina trifosfato, adenosina difosfato e adenosina monofosfato, são metabólitos cujas funções relacionam-se com a produção, armazenamento e gasto energético. Toda a energia necessária para o funcionamento do organismo provém de referidas moléculas. Essas moléculas são mencionadas conjuntamente, uma vez que, para o espectro de RMN de ^1H , o grupo contendo os fosfatos dificilmente gera sinal detectável, pois os hidrogênios das hidroxilas ligadas aos átomos de fósforo trocam rapidamente, dando lugar a núcleos de deutério que, no caso, não exprimem sinal na ressonância. Assim, o espectro correspondente à adenosina é similar para todas as três espécies, a mono, a di e a trifosfato.

A anserina e carnosina são dois dipeptídeos específicos da massa muscular (BEAUCLERCQ et al., 2016), metabolizados a partir da β -alanina (CULBERTSON; FULLAGAR; MILLS, 2010). São encontrados naturalmente em altas concentrações no cérebro e músculo de diversos animais, bem como no homem, porém em menores concentrações no plasma. Tratam-se de conhecidos antioxidantes endógenos, que atuam como captadores de radicais (GUIOTTO et al., 2005).

Culbertson, Fullagar e Mills (2010), relatam que a β -alanina é relacionável com uma melhora do desempenho muscular do animal.

Os ruminantes têm maior uso de beta-hidroxybutirato (BHB) como substrato energético pelos músculos comparado aos animais monogástricos, sendo que os músculos do traseiro têm potencial de utilização de 10 a 45% do conteúdo de BHB plasmático (ou seja, muito maior do que para glicose (HOCQUETTE et al., 1998). Em ovelhas, o BHB pode ser positivamente correlacionado com o teor de massa muscular e deposição proteína de carcaça (CAMERON 1992; CLARKE et al., 1996), por sua vez, foi negativamente correlacionado com a quantidade de gordura nas carcaças (CLARKE et al., 1996).

Campion et al. (2009) não encontraram diferenças para as concentrações plasmáticas de ureia, glicose e beta-hidroxibutirato, entre animais de alto a baixa DEP para peso de carcaça. Os autores justificam esse efeito pela similaridade no consumo de matéria seca dos animais, uma vez que o estado energético (consumo de matéria seca) e o genótipo são os principais determinante da concentração de metabolitos no sangue.

Por outro lado, quando os mesmos avaliaram os metabólitos em função da raça encontraram menor concentração de ureia plasmática em raças de bovinos de leite comparado às raças de bovinos de corte. Os mesmos autores relatam ainda maior teor de ureia em animais da raça Angus, comparado aos da raça Belgian Blue. Os autores explicam que animais da raça Angus são mais precoces e requerem menor ingestão de proteínas para crescimento muscular, sendo que o excesso desse nutriente origina maiores quantidades de ureia no plasma, comparado aos animais da raça Belgian Blue.

As concentrações de ureia no sangue são correlacionadas negativamente com o alto crescimento em ovelhas (CAMERON 1992; CLARKE et al., 1996), e correlacionou-se positivamente com a quantidade de gordura nas carcaças de ovinos (CAMERON et al., 1994; CLARKE et al., 1996). Richardson et al. (2004) reportam que a seleção de animais para consumo alimentar residual (CAR) se correlaciona positivamente com a ureia plasmática de bovinos pós desmame. No entanto, os autores observaram que essa correção não se manteve em outros períodos de coleta.

De modo geral, a ureia plasmática pode ser resultado da alta ingestão de proteína e do catabolismo proteico no músculo esquelético (VAN BIBBER-KRUEGER et al., 2015), animais que tem maiores taxas de crescimento muscular tem maior retenção de N, diminuindo assim sua concentração no plasma (BRAKE; TITGEMEYER; JONES, 2011). Apesar da seleção genética utilizada nesse estudo se correlacionar com crescimento animal, as taxas de crescimento dos animais de alta e baixa DEP foram similar durante a terminação, e consequentemente nenhum efeito foi observado para esse metabólito.

A creatina é uma amina nitrogenada amplamente encontrada no tecido muscular envolvida na síntese de ATP e na função muscular. A creatinina é um composto nitrogênio produzido a partir de creatina muscular e moléculas de fosfocreatina contidas principalmente nos músculos, e é considerado um metabólito marcador para a quantidade de massa muscular (RENNIE; MILLWARD, 1983; VIRGILI et al., 1994). A creatinina é pouco afetada pela alimentação, principalmente pelo consumo de proteína (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008), sendo assim, é considerada um composto relativamente constante e seus níveis sanguíneos pouco afetados (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997). As concentrações plasmáticas de creatinina foram correlacionada positivamente com conteúdo de massa muscular em ovelhas (CAMERON 1992; CLARKE et al., 1996), e foi encontrado maiores concentrações em touros comparado à castrados, refletindo a maior massa muscular dos touros (MORGAN et al., 1993). O nível de creatinina também foi negativamente correlacionado com a quantidade da gordura em ovelhas. Clarke et al. (1996) encontraram que a concentração sanguínea de creatinina e ureia em conjunto representaram 60% da variação entre genótipo x sexo na avaliação quantidade de gordura subcutânea entre a 12^a e 13^a costelas de bovinos. Além disso, Richardson et al. (2004) reportam correlação negativa entre CAR e creatinina plasmática, uma vez que animais de alto CAR tiveram menor massa muscular.

Consolo et al. (2015) observaram maiores teores de creatinina em novilhas Nelore com maiores taxas de ganho de peso e maior AOL. Apesar do GMD dos animais desse estudo não apresentar efeito em função do grupo genético, os animais do Rebanho 1 de alto potencial de crescimento terminaram o período experimental com maior peso vivo comparado aos de baixo potencial, justificando a

tendência de maior creatinina no plasma de animais de alto potencial de crescimento. Visto que os animais mais pesados têm maior proporção de músculos e ossos, e menor teor de gordura na sua carcaça (BERG; BUTTERFIELD, 1976).

Karisa et al. (2014) avaliando o metaboloma de animais Angus x Simental reportam que 10 metabólitos foram relacionados com o ganho médio diário dos animais, representando 82,3% da variação fenotípica para essa característica. Sendo a glicose, betaína, lisina, acetato, histidina, colina, citrato, glutamato, lactato e ureia. No presente estudo, esses metabólitos apresentaram similaridade entre os grupos genéticos, provavelmente devido ao desempenho bastante semelhante entre os dois grupos de ambos os rebanhos.

Os metabólitos carnitina e betaína estão envolvidos no metabolismo de ácidos graxos, sendo relacionados com a produção de energia no tecido músculo (HOPPEL, 2003; RABIE; SZILÁGYI, 1998; ZHAN et al., 2006). Apesar de não significativo, o maior nível desses dois metabólitos encontrado nos animais de alta DEP acompanhado por um nível significativo de glicerol sugeriu um aumento da lipólise e, assim a oxidação de triglicerídeos pode fornecer energia para o músculo iniciar vias biossintéticas tais como a síntese de proteínas (FRITZ; KAPLAN; YUE, 1962; HOPPEL, 2003; RASMUSSEN; WOLF, 1999; STRAADT; AASLYNG; BERTRAM, 2014; TRABI; KELLER; JANSSEN, 2013). Ao mesmo tempo, animais de alto potencial para crescimento apresentaram menor concentração de leucina, cujo papel fundamental é a iniciação de processos anabólicos no músculo, incluindo a síntese de proteínas miofibrilares, resultando em animais com maior deposição muscular, isso levaria a uma menor quantidade de leucina na corrente sanguínea.

As concentrações plasmáticas de betaina podem ser alteradas pela absorção intestinal, síntese a partir da colina, metabolismo da dimetilglicina, armazenamento muscular, fígado e tecidos renais, bem como a eliminação urinária. O metabólito glutamato decorrente do ácido glutâmico também foi identificado no presente estudo. O glutamato é um substrato para a síntese de proteínas, precursor anabólico para crescimento dos músculos, regulador do equilíbrio ácido-base no rim e, além disso, que assegura o transporte de nitrogênio inter-órgãos (NEWSHOLME et al., 2003).

Os aminoácidos (aa) plasmáticos são derivados da alimentação ou do turnover proteico do tecido muscular. Maiores quantidades de aminoácidos na corrente

sanguínea podem sugerir desbalanceamento dietético ou maiores taxas de turnover e por consequência, menor deposição proteica. Não houve efeito da seleção genética ($P > 0,05$) para nenhum dos aminoácidos avaliados, sejam não essenciais ou essenciais em ambos os rebanhos.

Na Figura 9 e 10 estão apresentados a concentração (em $\mu\text{M/L}$) dos aminoácidos que puderam ser identificados e quantificados nos espectros do Rebanho 1 e 2 respectivamente. Não houve efeito do potencial de crescimento para nenhum dos aminoácidos avaliados independente do rebanho.

Figura 9 – Quantificação dos aminoácidos do plasma de bovinos Nelore de alto e baixo potencial para crescimento do Rebanho 1.

Fonte: Própria autoria

Os aminoácidos não essenciais recebem essa denominação, pois podem ser sintetizados através de outros aminoácidos ou pelo organismo animal por meio de metabólitos ou do excesso de aminoácidos.

A alanina e a glicina são aminoácidos gliconeogênicos que podem ser utilizados para produção de glicose, de acordo com a demanda por esse nutriente (BEAUCLERCQ et al., 2016). Já a glicina está envolvida na biossíntese da creatina. Esta, por sua vez, tem papel na produção de energia responsável por uma melhora no desempenho muscular do animal (BEAUCLERCQ et al., 2016), além de ser precursora da creatinina, que é formada a partir da conversão não enzimática da creatina através da eliminação de água e ciclização (WYSS; KADDURAH-DAOUK, 2000). Dessa forma, animais de maior potencial de crescimento poderiam ter menores teores de alanina e maiores teores de glicina, devido à maior demanda de glicose para crescimento, porém, no presente estudo, animais de alto e baixo potencial para crescimento se assemelharam nas taxas de crescimento durante a terminação, gerando resultados semelhantes para os aminoácidos em questão.

Da mesma forma, não houve efeito da seleção genética ($P > 0,05$) para as concentrações de aminoácidos essenciais no plasma dos bovinos (Figura 10).

Os aminoácidos leucina, isoleucina e valina também se tratam de aminoácidos de cadeias ramificadas. A leucina tem como principal função a iniciação dos

processos anabólicos na musculatura, destacando-se como reguladora da síntese de proteínas musculares (ANTHONY et al., 2000; WILKINSON et al., 2013), bem como a isoleucina, aminoácido com marcantes características anabólicas que age como um elemento iniciador da síntese proteica (WILKINSON et al., 2013). A valina por sua vez, é um aminoácido essencial para o ser humano que também se encontra envolvido no processo de biossíntese proteica. Os dois últimos podem ser convertidos a glicose no organismo, diferentemente da leucina (LETTO; BROSNAN; BROSNAN, 1986). Apesar de não significativo, os níveis de leucina foram numericamente maiores no plasma de animais de baixo potencial para crescimento comparado aos de alto potencial de crescimento. Isso se deve ao maior “sequestro” de leucina para as miofibrilas e assim iniciar os processos anabólicos da massa muscular em animais de maior potencial de crescimento.

Dunnington e Siegel (1996) reportam que frangos selecionados para maiores taxas de crescimento apresentam melhores taxas de utilização de histidina e energia comparado a frangos com menores taxas de crescimento. Além disso os autores reportam que a lisina é um aminoácido essencial para crescimento muscular.

Figura 10 – Quantificação dos aminoácidos do plasma de bovinos Nelore de alto e baixo potencial para crescimento do Rebanho 2.

Fonte: Própria autoria

8 CONCLUSÃO

A partir dos resultados apresentados no presente estudo conclui-se que o potencial genético para ganho de peso ao sobreano não influencia o desempenho durante a terminação, e consequentemente o metaboloma dos animais foi independente do rebanho estudado. Com os resultados obtidos nesse trabalho, não foi possível encontrar possíveis marcadores biológicos para características relacionadas ao ganho de peso ao sobreano.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, L. G. et al. Princípios de avaliação genética. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE CRIADORES E PESQUISADORES, 2003, Ribeirão Preto.
- Resumos...** Ribeirão Preto, 2003. v. 1. 1 CD-ROM.
- ALENCAR, M. M. Perspectivas para o melhoramento genético de bovinos de corte no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE MELHORAMENTO ANIMAL; REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SBZ, 2004. 1 CD-ROM
- ANTHONY, J. C. et al. Leucine stimulates translation initiation in skeletal muscle of postabsorptive rats via a rapamycin-sensitive pathway. **The Journal of Nutrition**, New York, v. 130, p. 2413-2419, 2000.
- BARBOSA, P. F. Raças e estratégias de cruzamento para produção de novilhos precoces. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 1999, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 1999. p. 1-19.
- BEAUCLERCQ, S. et al. Serum and muscle metabolomics for the prediction of ultimate pH, a key factor for chicken-meat quality. **Journal of Proteome Research**, Washington, v. 15, p. 1168-1178, 2016.
- BECKONERT, O. et al. Metabolic profiling, metabolomic and metabonomic procedures for NMR spectroscopy of urine, plasma, serum and tissue extracts. **Nature Protocols**, London, v. 2, n. 11, p. 2692-2703, 2007.
- BECKWITH, B. M. et al. A metabonomic investigation of hepatotoxicity using diffusion-edited ¹H NMR spectroscopy of blood serum. **Analyst**, London, v. 128, n. 7, p. 814-818, 2003.
- BEDAIR, M.; SUMMER, L. W. Current and emerging massspectrometry technologies for metabolomics. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 27, p. 238-250, 2008.
- BERG, R. T.; BUTTERFIELD, R. M. **New concepts of cattle growth**. Sydney: Sydney University Press, 1976. 240 p.
- BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2006.
- BINNECK, E. As ômicas: integrando a bioinformação. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Uberlândia, v. 7, n. 32, p. 28-37, 2004.
- BOLEMAN, S. L. et al. National beef quality audit-1995: survey of producer-related defects and carcass quality and quantity attributes. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, n. 1, p. 96-103, 1998.
- BOIN, C. Manejo da alimentação, aditivos e anabolizantes para o acabamento de bovinos de corte em confinamento. In: PEIXOTO, A. M.; MOURA, J. C.; FARIA, V. P. **Bovinocultura de corte: fundamentos da exploração racional**. 3. ed. Piracicaba: FEALQ, 1999. p. 329-345.
- BOLIGON, A. A. et al. Herdabilidades para ganho de peso da desmama ao sobreano e perímetro escrotal ao sobreano e tendências genética e fenotípica para ganho de peso da desmama ao sobreano em bovinos Nelore-Angus. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, p. 1323-1328, 2006.
- BRAKE, D. W.; TITGEMEYER, E. C.; JONES, M. L. Effect of nitrogen supplementation and zilpaterol-HCl on urea kinetics in steers consuming corn-based

- diets. **Journal Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 95, p. 409-416, 2011.
- CAMERON, N. D. Correlated physiological responses to selection for carcass lean content in sheep. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 30, p. 53-68, 1992.
- Cameron ND, Curran MK, Kerr JC (1994) Selection for components of efficient lean growth rate in pigs. 3. Responses to selection with a restricted feeding regime. **Animal Production** 59, 271-279.
- CAMPIDELLI, A. M.; JOSAHKIAN L. A. A importância das avaliações fenotípicas para o melhoramento genético animal. **FAZU em Revista**, Uberaba, n. 8, p. 147-151, 2011.
- CAMPION, B. et al. Evaluation of estimated genetic merit for carcass weight in beef cattle: blood metabolites, carcass measurements, carcass composition and selected non-carcass components. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 126, n. 1-3, p. 100-111, 2009.
- CEACERO, T.M. **Correlação entre características de eficiência alimentar, de crescimento e de carcaça em bovinos nelore**. 2015. 48f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal Sustentável) – Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, 2015
- CHALLIS, G. L.; HOPWOOD, D. A. Synergy and contingency as driving forces for the evolution of multiple secondary metabolite production by *Streptomyces* species. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 100, n. Suppl. 2, p. 14555-14561, 2003.
- CHILLIARD, Y. et al. Plasma leptin in underfed or overfed adult Holstein and Charolais cows and its relationship with adipose tissue cellularity. **International Journal of Obesity**, London, v. 22, p. 171-179, 1998.
- CLARKE, M. et al. Live animal measurements, carcass composition and plasma hormone and metabolite concentrations in male progeny of sires differing in genetic merit for beef production. **Animal**, Cambridge, v. 3, n. 7, p. 933-945, 2009.
- CLARKE J. N. et al. Repeatabilities of blood plasma metabolites and their associations with leanness in genotypes showing a wide divergence in carcass composition. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, Hamilton, v. 56, p. 180-183, 1996.
- COLNAGO, L. A.; ALMEIDA, F. C. L.; VALENTE, A. P. Espectrometria de massas e RMN multidimensional e multinuclear - revolução no estudo de macromoléculas biológicas. **Química Nova na Escola**, São Paulo, v. 1, n. 16, p. 9-14, 2002.
- CÔNSOLO, N. R. B. et al. Effects of ractopamine hydrochloride and dietary protein content on performance, carcass traits and meat quality of Nellore bulls. **Animal**, Cambridge, v. 10, n. 3, p. 539-546, 2016.
- CÔNSOLO, N. R. B. et al. Zilpaterol hydrochloride improves feed efficiency and changes body composition in nonimplanted Nellore heifers. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 93, n. 10, p. 4948-4955, 2015.
- CULBERTSON, S. S.; FULLAGAR, C. J.; MILLS, M. J. Feeling good and doing great: The relationship between psychological capital and well-being. **Journal of Occupational Health Psychology**, Washington, v. 15, p. 421-433, 2010.
- DE VOS, R. C. H. et al. Untargeted large-scale plant metabolomics using liquid chromatography coupled to mass spectrometry. **Nature Protocols**, London, v. 2, p. 778-791, 2007.

- DEMAIN, A. L.; VAISHNAV, P. **Involvement of nitrogen-containing compounds in beta-lactam biosynthesis and its control**, v.26. 67-82 p.
- DEVLIN, T. M. **Manual de bioquímica com correlações clínicas**. São Paulo: Edgard Blücher, 2011. 1252 p.
- DIKEMAN, M. E. et al. Phenotypic ranges and relationships among carcass and meat palatability traits for fourteen cattle breeds, and heritabilities and expected progeny differences for Warner-Bratzler shear force in three beef cattle breeds. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, n. 10, p. 2461-2467, 2005.
- DIXON, R. A. Natural products and plant disease resistance. **Nature**, London, v. 411, n. 6839, p. 843-847, 2001.
- DOWNIE, J. G.; GELMAN, A. L. The relationship between changes in body weight, plasma glucose and fertility in beef cows. **Veterinary Research**, London, v. 99, p. 210-212, 1976.
- DUDLEY, E. et al. Targeted metabolomics and mass spectrometry. **Advances in Protein Chemistry and Structural Biology**, Amsterdam, v. 80, p. 45-83, 2010.
- DUNCAN, R. J.; PRASSE, K. W. **Clinical pathology**. 4th. ed. Athens: Iowa State Press, 2003. 450 p.
- DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B. Long-term divergent selection for eight-week body weight in white plymouth rock chickens. **Poultry Science**, Cary, v. 75, n. 10, p. 1764-1771, 1996.
- EUCLIDES FILHO, K. Melhoramento animal: conquistas e perspectivas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 32, 1995, Brasília. **Anais...** Brasília: SBZ, 1995. p. 611-615.
- FAOSTAT, 2015. FAOSTAT online database at <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/browse/G2*/E>.
- FERNANDES, H. D. E.; FERREIRA, G. B. Estudo comparativo de sete diferentes modelos estatísticos para a característica ganha de peso em bovinos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, p. 1340-1348, 2000.
- FRITZ, I. B.; KAPLAN, E.; YUE, K. T. N. Effects of carnitine on fatty-acid oxidation by muscle. **American Journal of Physiology**, Washington, v. 202, p. 117-121, 1962.
- FUKUSAKI, E.; KOBAYASHI, A. Plant metabolomics: potential for practical operation. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 100, n. 4, p. 347-354, 2005.
- GERMAN, J. B.; WATKINS, S. M.; FAY, L. B. Metabolomics in practice: emerging knowledge to guide future dietetic advice toward individualized health. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 105, n. 9, p. 1425-1432, 2005.
- GIBNEY, M. J. et al. Metabolomics in human nutrition: opportunities and challenges. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 82, p. 497-503, 2005.
- GONZÁLEZ, F. H. D. et al. (Ed.). **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006. 357 p.
- GOVINDARAJU, V.; YOUNG, K.; MAUDSLEY, A. A. Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. **NMR Biomes**, London, v. 13, p. 129-153, 2000.

- GRANT, A. L.; HELFERICH, W. G. An overview of growth. In: PERSON, A. M.; DUTSON, T. R. **Growth regulation in farm animals: advances in meat research**. New York: Elsevier Science Publishing Co. Inc., 1991. v. 7, p. 1-16.
- GRIZARD, J. et al. Nutrient regulation of skeletal muscle protein metabolism in animals. The involvement of hormones and substrates. **Nutrition Research Review**, Cambridge, v. 8, n. 1, p. 67-91, 1995.
- GHAFFARI, M. H. et al. Diurnal variation of NMR based blood metabolites in calves fed a high plane of milk replacer: a pilot study. **BMC Veterinary Research**, London, v. 13, n. 1, art. 271, 2017.
- GUIOTTO, A. et al. Carnosine and carnosine-related antioxidants: a review. **Current Medicinal Chemistry**, Sharjah, v. 12, p. 2293-2315, 2005.
- HALL, R. D. Plant metabolomics: from holistic hope, to hype, to hot topic. **New Phytologist**, Chichester, v. 169, n. 3, p. 453-468, 2006.
- HOCQUETTE, J. F. et al. Nutritional and hormonal regulation of energy metabolism in skeletal muscles of meatproducing animals. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 56, p. 115-143, 1998.
- HOPPEL, C. The role of carnitine in normal and altered fatty acid metabolism. **American Journal of Kidney Diseases**, Philadelphia, v. 41, n. Suppl. 4, p. S4-S12, 2003.
- Jl, S. Q. et al. Partial cloning and expression of the bovine leptin gene. **Animal Biotechnology**, New York, v. 9, n. 1, p. 1-14, 1998.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6th ed. San Diego: Academic Press, 2008.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed.). **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. New York: Academic Press, 1997.
- KARISA, B. K. et al. Plasma metabolites associated with residual feed intake and other productivity performance traits in beef cattle. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 165, p. 200-211, 2014.
- KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 3. ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2011. 216 p.
- LEI, Z.; HUHMANN, D. V.; SUMMER, L. W. Mass spectrometry strategies in metabolomics. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 286, n. 29, p. 25435-25442, 2011.
- LETTO, J.; BROSANAN, M. E.; BROSANAN, J. T. Valine metabolism. Gluconeogenesis from 3-hydroxyisobutyrate. **Biochemical Journal**, London, v. 240, n. 3, p. 909-912, 1986.
- LIN, S. et al. LC/MS-based non-targeted metabolomics for the investigation of general toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in C57BL/6J and DBA/2J mice. **International Journal of Mass Spectrometry**, Amsterdam, v. 301, p. 29-36, 2011.
- LINDON, J. C.; NICHOLSON, J. K. Analytical technologies for metabolomics and metabolomics, and multi-omic information recovery. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 27, p. 194-205, 2008.
- LÔBO, R. N. B. As avaliações genéticas e o melhoramento de caprinos e ovinos. **Boletim Pecuário**, Belo Horizonte, set. 2002.
- LOPES, M. A.; SAMPAIO, A. A. M. **Manual do confinador de bovinos de corte**. Jaboticabal: FUNEP, 1999. 106 p.

- MATEO, R. D. et al. Effects of dietary arginine supplementation during gestation and lactation on the performance of lactating primiparous sows and nursing piglets. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 86, n. 4, p. 827-835, Apr. 2008.
- MATEO, R. D. et al. Dietary L- arginine supplementation enhances the reproductive performance of gilts. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 137, n. 3, p. 652-656, Mar. 2007.
- MCGILCHRIST, A. P. et al. Selection for increased muscling in Angus cattle did not increase the glycolytic potential or negatively impact pH decline, retail colour stability or mineral content. **Meat Science**, Amsterdam, v. 114, p. 8-17, 2016.
- MINTON, J. E. et al. Serum leptin is associated with carcass traits in finishing cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, p. 231-239, 1998.
- MORGAN, R. V. et al. Protrusion of the gland of the third eyelid in dogs: a retrospective study of 89 cases (1980 to 1990). **Journal of the American Animal Hospital Association**, Lakewood, v. 29, p. 56-60, 1993.
- NEGRÃO, A. B.; LICÍNIO, J. Leptina: o diálogo entre adipócitos e neurônios. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 205-214, 2000.
- NEWSHOLME, P. et al. Glutamine and glutamate as vital metabolites. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 36, n. 2, p. 153-63, 2003.
- NICHOLSON, J. K.; BUCKINGHAM, M. J.; SADLER, P. J. High resolution ¹H n.m.r. studies of vertebrate blood and plasma. **Biochemical Journal**, London, v. 211, n. 3, p. 605-615, 1983.
- NICHOLSON, J. K.; LINDON, J. C.; HOLMES, C. Metabonomics: understanding the metabolic response of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. **Xenobiotica**, London, v. 29, n. 11, p. 1181-1189, 1999.
- NICHOLSON, J. K.; LINDON, J. C. Systems biology: metabonomics. **Nature**, London, v. 455, n. 7216, p. 1054-1056, 2008.
- NOLAN, J. V.; MACKIE, R. I. Nitrogen metabolism by ruminal microorganisms: current understanding and future perspectives. **Australian Journal of Agricultural and Research**, Clayton, v. 47, n. 2, p. 227-246, 1993.
- OKUT, H. et al. Predicting expected progeny difference for marbling score in Angus cattle using artificial neural networks and Bayesian regression models. **Genetics Selection Evolution**, London, v. 45, art. 34, 2013.
- ORESIC, M. Metabolomics, a novel tool for studies of nutrition, metabolism and lipid dysfunction. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, Oxford, v. 11, p. 816-824, 2009.
- OSORIO, M. T. et al. Authentication of beef production systems using a metabolomic-based approach. **Animal**, Cambridge, v. 6, n. 1, p. 167-172, 2012.
- OWENS, F. N.; DUBESKI, P.; HANSON, C. F. Factors that alter the growth and development of ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, n. 11, p. 3138-3150, 1993.
- PAULINO, P. V. R. et al. Deposição de tecidos e componentes químicos corporais em bovinos Nelore de diferentes classes sexuais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n.12, p. 2516-2524, 2009.

- PINTO, P. A. **O perímetro escrotal como critério de seleção em bovinos Nelore (*Bos taurus indicus*)**. 1994. 54 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1994.
- RAASCH, W. et al. Biological significance of agmatine, an endogenous ligand at imidazoline binding sites. **British Journal of Pharmacology**, West Sussex, v. 133, p. 755-780, 2001.
- RABIE, M. H.; SZILÁGYI, M. Effects of L-carnitine supplementation of diets differing in energy levels on performance, abdominal fat content, and yield and composition of edible meat of broilers. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 80, p. 391-400, 1998.
- RASMUSSEN, B. B.; WOLF, R. R. Regulation of fatty acid oxidation in skeletal muscle. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 19, p. 463-84, 1999.
- RENNIE, M. J.; MILLWARD, D. J. 3-methylhistidine excretion and the urinary 3-methylhistidine: creatinine ratio are poor indicators of skeletal muscle protein breakdown. **Clinical Science**, London, v. 65, p. 217-225, 1983.
- REYNOLDS, B. et al. Effect of repeated freeze-thaw cycles on routine plasma biochemical constituents in canine plasma. **Veterinary Clinical Pathology**, Hoboken, v. 35, n. 3, p. 339-340, 2006.
- RICHARDSON, E. C. et al. Metabolic differences in Angus steers divergently selected for residual feed intake. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Clayton, v. 44, p. 441-452, 2004.
- RINTTILÄ, T.; APAJALAHTI, J. Intestinal microbiota and metabolites - implications for broiler chicken health and performance. **The Journal of Applied Poultry Research**, Cary, v. 22, p. 647-658, 2013.
- ROMERO, C. E. M.; ZANESCO, A. O papel dos hormônios leptina e grelina na gênese da obesidade. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 1, p. 85-91, 2006.
- SAINZ, R. D.; ARAUJO, F. R. C. Tipificação de carcaças de bovinos e suínos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 1, 2001, São Pedro. **Anais...** Campinas: Centro de Tecnologia de Carnes do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2001. p. 26-55.
- SANTIAGO, A. A. A raça nelore. In: _____. **Gado nelore: 100 anos de seleção**. São Paulo: Editora dos Criadores, 1987. p. 592.
- SAPP, R. L. et al. Effects of selection for ultrasound intramuscular fat percentage in Angus bulls on carcass traits of progeny. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 2017-2022, 2002.
- SASTRE, M. et al. J. Agmatinase activity in rat brain: a metabolic pathway for the degradation of agmatine. **Journal of Neurochemistry**, New York, v. 67, p. 1761-1765, 1996.
- SILVEIRA, A. C. Novilho superprecoce: técnicas de nutrição e manejo. In: SIMPÓSIO GOIANO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE BOVINOS DE CORTE E LEITE, 5., 2003, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2003. p. 153-166.
- SMITH, R. J. Glutamine metabolism and its physiologic importance. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Thousand Oaks, v. 14, p. 40-44, 1990.
- STRAADT, I. K.; AASLYNG, M. D.; BERTRAM, H. B. An NMR-based metabolomics study of pork from different crossbreeds and relation to sensory perception. **Meat Science**, Amsterdam, v. 96, p. 719-728, 2014.

- TANAKA, K.; HINE, D. G. Compilation of gas chromatographic retention indices of 163 metabolically important organic acids, and their use in detection of patients with organic acidurias. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 239, p. 301-322, 1982.
- TRABI, M.; KELLER, M. D.; JONSSON, N. N. NMR-based metabonomics of bovine blood: an investigation into the effects of long term storage on plasma samples. **Metabolomics**, New York, v. 9, p. 1041-1047, 2013.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – USDA. Foreign Agricultural Service. **Livestock and poultry**: world markets and trade. 2016. Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2018.
- VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; GOLÇALVES, L. C. Níveis de proteína em dietas de bovinos. Concentrações de amônia ruminal e ureia plasmática e excreções de ureia e creatina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 26, n. 6, p. 1270-1278, 1997.
- VAN BIBBER-KRUEGER, C. L. et al. Effects of zilpaterol hydrochloride on growth performance, blood metabolites, and fatty acid profiles of plasma and adipose tissue in finishing steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 93, n. 5, p. 2419-2427, 2015.
- VANDERGREEF, J. Field desorption mass spectrometry in bioanalysis. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 5, n. 9, p. 241-246, 1986.
- VIRGILI, F. et al. Relationship between fat-free mass and urinary excretion of creatinine and 3MH in adult humans. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 76, p. 1946-1950, 1994.
- VISEK, W. J. Ammonia metabolism, urea cycle capacity and their biochemical assessment. **Nutrition Reviews**, Cary, v. 37, n. 9, p. 273-282, 1979.
- VOLEK, J. S. et al. Creatine supplementation enhance muscular performance during high intensity resistance exercise. **Journal of American Dietetic Association**, Chicago, v. 97, n. 7, p. 765-770, 1997.
- WATKINS, S. M. et al. Individual metabolism should guide agriculture toward foods for improved health and nutrition. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 74, n. 3, p. 283-286, 2001.
- WEIKARD, R. et al. Metabolomic profiles indicate distinct physiological pathways affected by two loci with major divergent effect on *Bos taurus* growth and lipid deposition. **Physiological Genomics**, Bethesda, v. 42A, n. 2, p. 79-88, 2010.
- WEISS, W. P.; CONRAD, H. R.; PIERRE, N. R. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 39, p. 95-110, 1992.
- WILKINSON, D. J. et al. Effects of leucine and its metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate on human skeletal muscle protein metabolism. **The Journal of Physiology**, Chichester, v. 591, n. 11, p. 2911-2923, 2013.
- WYSS, M.; KADDURAH-DAOUK, R. Creatine and creatinine metabolism. **Physiological Reviews**, Washington, v. 80, p. 1107-1213, 2000.
- WIDMANN, P. et al. Systems Biology Analysis Merging Phenotype, Metabolomic and genomic Data Identifies Non –SMC Condensin I Complex Subunit G (NCAPG) and Cellular Maintenance Processes as Major Contributors to Genetic Variability in Bovine Feed Efficiency. **PLOS ONE**, v. 10, n. 4, p. e0124574, 15 abr. 2015.

- ZEOULA, L. M.; GERON, L. J. V. Vitaminas. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S; G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006.
- ZHAN, X. A. et al. Effects of methionine and betaine supplementation on growth performance, carcasse composition and metabolism of lipids in male broilers. **British Poultry Science**, Cary, v. 47, art. 5, 2006.
- ZIEGENFUSS, T. et al. Acute creatine ingestion: effects on muscle volume, anaerobic power, fluid volumes, and protein turnover. **Medicine Science in Sports and Exercise**, Madison, v. 29, p. S127, 1997.

ANEXO

A Figura 11 representa a estrutura química de alguns dos metabólitos quantificados no plasma através de RMN ^1H .

Figura 11 . Estruturas químicas para vários metabólitos observados por RMN ^1H no plasma de bovinos.

Fonte: GOVINDARAJU et al., 2000.