

**CONTRATO DE COMODATO Nº 22/2023, QUE ENTRE SI CELEBRAM A UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS – UFLA E MATEUS PEZZATO SANTIAGO, NA FORMA ABAIXO.**

Pelo presente Instrumento e na melhor forma de direito, de um lado a **UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS**, pessoa jurídica de direito público, autarquia especial integrante da Administração Indireta da União, vinculada ao Ministério da Educação, criada pela Lei nº 8.956, de 15 de dezembro de 1994, inscrita no CNPJ/MF sob o nº 22.078.679/0001-74, com sede na cidade de Lavras, Estado de Minas Gerais, *Campus* Universitário, doravante denominada **COMODATÁRIA**, neste ato representada por seu Reitor, Professor **JOÃO CHRYSOSTOMO DE RESENDE JÚNIOR**, nomeado pelo Decreto Presidencial de 30 de abril de 2020, publicado no DOU de 4/5/2020, página 1, Seção 2, residente e domiciliado na cidade de Lavras, Estado de Minas Gerais, e, de outro lado, **MATEUS PEZZATO SANTIAGO**, pessoa natural, inscrito como produtor rural na SEF/MG sob o nº 002.520.698.00-05, residente e domiciliado na Estrada Municipal Remigio Olivotti, 5503, CEP 37640-000, Barreiro, Extrema, MG, doravante denominado **COMODANTE**, resolvem celebrar o presente **CONTRATO DE COMODATO**, sem a abertura de Processo Administrativo para realização de Chamamento Público, conforme exigência da Constituição Federal (art. 37, XXI) c/c a Lei nº 14.133/2021, tendo em vista que trata-se de cessão de semoventes que só possam ser fornecidos por produtor exclusivo, considerando as condições para execução singular da pesquisa, e será regido pela Lei nº 14.133/2021, pelos artigos 579 e seguintes da Lei nº 10.406/2002 (Código Civil Brasileiro), no que couber, e pelas demais normas legais pertinentes à matéria, bem como pelas cláusulas e condições a seguir estabelecidas:

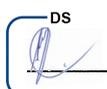
**CLÁUSULA PRIMEIRA – DO OBJETO**

O objeto do presente Instrumento é o empréstimo à **COMODATÁRIA**, em regime de comodato, de 46 bovinos F1 Angus x Nelore, filhos do mesmo touro, de ambos os sexos, em bom estado sanitário e nutricional, com a finalidade de participar da terminação e atividades relacionadas ao Projeto de Pesquisa denominado "**Uso de vitamina A injetável em vacas gestantes ou em bezerros sobre o desempenho, características de carcaça e qualidade da carne de novilhos**", financiado com recursos da Fapemig, Edital Nº 001/2021 - DEMANDA UNIVERSAL, processo APQ-02088-21.

**SUBCLÁUSULA PRIMEIRA** – Os semoventes citados no caput devem possuir idade ao redor de 7 meses, pesar por volta de 230 kg, e devem ser oriundos do rebanho que já participam da pesquisa supracitada.

**SUBCLÁUSULA SEGUNDA** – O valor de mercado de cada semovente é de aproximadamente R\$ 2.800,00 (reais).

**CLÁUSULA SEGUNDA – DAS OBRIGAÇÕES DA COMODATÁRIA**

DS  


Minuta aprovada pela  
Procuradoria Federal na UFLA  
Parecer nº00073/2023

DS  


1/ 5

DS  


NINTEC/VICE-REITORIA/UFLA  
Processo: 23090.006452/2023-33

DS  


DS  


Constituem obrigações da **COMODATÁRIA**, a serem executadas pelo **DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA**, doravante denominado **DZO/UFLA**, na condição de Unidade Executora do presente Contrato, neste ato representado por seu Chefe:

I - receber e conferir os semoventes objeto deste Contrato, assinando conjuntamente com o **COMODANTE** o TERMO DE RECEBIMENTO, no qual devem constar as características e demais observações que se fizerem necessárias para identificação de cada um dos semoventes;

II - indicar o servidor ou os servidores responsáveis pela guarda e manejo dos semoventes nas instalações da **COMODATÁRIA**;

III - manter os bovinos de que trata a Cláusula Primeira em local apropriado e em total segurança, até a efetiva devolução ao **COMODANTE**, não podendo onerá-los ou cedê-los a qualquer título a terceiros;

IV - não realizar qualquer alteração nos semoventes, ressalvadas as mudanças ocorridas no desenvolvimento fisiológico decorrentes das dietas experimentais a que forem submetidos, em razão da execução do Projeto de Pesquisa de que trata o caput da Cláusula Primeira;

V - comunicar ao **COMODANTE** sobre ocorrências envolvendo qualquer um dos animais em comodato;

VI - restituir ao **COMODANTE**, no prazo fixado na Cláusula Sétima, os semoventes comodatados, nas mesmas condições em que os recebeu, acrescidos do desenvolvimento fisiológico inerente a essa espécie animal na fase em que se encontrar na data da devolução, assinando o respectivo TERMO DE DEVOLUÇÃO;

VII - arcar com as despesas de alimentação e vacina de cada semovente, bem como de eventuais medicações;

VIII - ministrar os alimentos aos animais diariamente e acompanhar as condições de saúde dos mesmos, devendo comunicar eventuais intercorrências ao proprietário;

IX - utilizar os semoventes descritos na Cláusula Primeira exclusivamente para os fins de pesquisa da **COMODATÁRIA**;

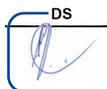
X - prestar, sempre que solicitado, esclarecimentos acerca do objeto deste Instrumento, autorizando o **COMODANTE** a vistoriar os semoventes, sempre que desejado, desde que previamente agendado.

### CLÁUSULA TERCEIRA – DAS OBRIGAÇÕES DO COMODANTE

Constituem obrigações do **COMODANTE**:

I - emprestar à **COMODATÁRIA**, a título de comodato, os semoventes descritos na Cláusula Primeira, livres e desembaraçados de quaisquer ônus, pelo período de vigência deste Contrato;

II - assinar o TERMO DE RECEBIMENTO de que trata o inciso I da Cláusula Segunda, bem como o TERMO DE DEVOLUÇÃO mencionado na Cláusula Sétima;

DS  


Minuta aprovada pela  
Procuradoria Federal na UFLA  
Parecer nº00073/2023

2/ 5

DS  


NINTEC/VICE-REITORIA/UFLA  
Processo: 23090.006452/2023-33

DS  


DS  


DS  


III - eximir-se de cobrar quaisquer valores pelo empréstimo dos semoventes de que trata a Cláusula Primeira, salvo se a **COMODATÁRIA** incorrer em perdas e danos ou em mora pela não devolução no prazo determinado na Cláusula Sexta, conforme previsto no artigo 582 do Código Civil Brasileiro.

IV após a devolução, enviar os animais para frigorífico comercial e permitir que o Coordenador do Projeto e/ou seus representantes tenham acesso às dependências do frigorífico, para as avaliações descritas na metodologia do Plano de Trabalho do Projeto **Uso de vitamina A injetável em vacas gestantes ou em bezerros sobre o desempenho, características de carcaça e qualidade da carne de novilhos** (em anexo), bem como realizar todas as coletas de amostras necessárias para a execução da pesquisa.

#### CLÁUSULA QUARTA – DA VIGÊNCIA

O prazo de vigência do presente Contrato é de 5 meses, a contar da data de sua assinatura, podendo ser prorrogado, caso haja interesse das partes, mediante celebração de Termo Aditivo.

**SUBCLÁUSULA ÚNICA** – O **COMODANTE** não poderá, salvo necessidade imprevista e urgente, reconhecida judicialmente, suspender o uso e gozo dos semoventes emprestados, antes de findo o prazo convencional.

#### CLÁUSULA QUINTA – DOS RECURSOS FINANCEIROS

Todas as despesas decorrentes do presente contrato, com exceção do transporte dos animais, serão custeadas pelo financiamento concedido pela Fapemig, por meio dos recursos aprovados no processo APQ-02088-21, sob responsabilidade do Prof. Márcio Machado Ladeira.

#### CLÁUSULA SEXTA – DA RESCISÃO

A inobservância por uma das partes das cláusulas e condições aqui pactuadas facultará à outra proceder à rescisão do presente Contrato, independentemente de notificação ou interpelação judicial ou extrajudicial.

#### CLÁUSULA SÉTIMA – DA DEVOLUÇÃO DOS BENS

Os semoventes de que trata a Cláusula Primeira deverão ser devolvidos ao **COMODANTE** até o término da vigência do Contrato.

**SUBCLÁUSULA PRIMEIRA** – O **COMODANTE** deverá receber e conferir os semoventes objetos deste Contrato, assinando conjuntamente com a **COMODATÁRIA** o **TERMO DE DEVOLUÇÃO**, no qual devem constar as características e demais observações que se fizerem necessárias para identificação de cada um dos semoventes, inclusive relativas ao peso e condições de saúde dos animais, atestadas por veterinário da UFLA.

DS  


DS  


DS  


DS  


DS  


**SUBCLÁUSULA SEGUNDA** - Em caso de inobservância do prazo previsto no caput, a **COMODATÁRIA** responderá pelo aluguel da coisa não devolvida, nos termos do inciso I da Cláusula Oitava.

**SUBCLÁUSULA TERCEIRA** – Em caso de não devolução de qualquer dos semoventes objetos deste Contrato, a **COMODATÁRIA** sujeitar-se-á ao pagamento de indenização em favor do **COMODANTE**, no importe de R\$ 2.800,00 (reais) para cada animal não devolvido, salvo nas hipóteses de caso fortuito ou força maior, conforme descrito no inciso II da Cláusula Oitava.

### CLÁUSULA OITAVA – DAS DISPOSIÇÕES GERAIS

Durante a vigência do presente Instrumento, será observado o seguinte:

I- a mora porventura havida na devolução de qualquer um dos semoventes de que trata a Cláusula Primeira facultará ao **COMODANTE** arbitrar o valor do aluguel devido, conforme permissivo do artigo 582 do Código Civil Brasileiro, a ser calculado entre o dia seguinte ao da expiração deste Contrato e o dia anterior ao da efetiva devolução.

II- Os casos fortuitos e de força maior serão excludentes da responsabilidade das partes, conforme disposto no artigo 393 e parágrafo único do Código Civil Brasileiro, salvo se, estando os bens do **COMODANTE** e da **COMODATÁRIA** em risco, os prepostos da segunda dispuserem-se a salvar os bens desta, em detrimento do salvamento dos pertencentes à primeira, quando, então, o **COMODANTE** poderá valer-se do disposto no artigo 583 da mesma lei e exigir o pagamento referente aos danos que foram causados em decorrência de tal ato.

### CLÁUSULA NONA – DA PUBLICAÇÃO

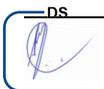
Caberá à **COMODATÁRIA** providenciar a publicação deste Contrato, por extrato, no *Diário Oficial* da União, até o 5º (quinto) dia útil do mês seguinte ao de sua assinatura, para ocorrer no prazo de 20 (vinte) dias daquela data, conforme determina o parágrafo único do artigo 61 da Lei nº 8.666/93.

### CLÁUSULA DÉCIMA – DO FORO

Por força do art. 109, inciso I, da Constituição Federal, o foro competente para dirimir quaisquer controvérsias resultantes da execução deste Contrato é o da Justiça Federal, Subseção Judiciária de Lavras, Estado de Minas Gerais.

E, assim, por estarem justos e acordados, assinam o presente Instrumento em 2 (duas) vias de igual teor e forma, para todos os fins de direito e de Justiça, na presença de duas testemunhas instrumentárias abaixo nomeadas e subscritas.

Lavras, data da assinatura eletrônica.

DS  


Minuta aprovada pela  
Procuradoria Federal na UFLA  
Parecer nº00073/2023

4/ 5

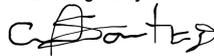
DS  


NINTEC/VICE-REITORIA/UFLA  
Processo: 23090.006452/2023-33

DS  
  
DS  


DS  


Pelo **COMODANTE**:

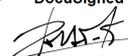
DocuSigned by:  
  
F0C0B97B7DBF439...

**MATEUS PEZZATO SANTIAGO**  
Produtor Rural

Pela **COMODATÁRIA**:

DocuSigned by:  
  
2439E966308C404...

**JOÃO CHRYSOSTOMO DE RESENDE JÚNIOR**  
Reitor da UFLA

DocuSigned by:  
  
D04F56D99AB...

DocuSigned by:  
  
D04F56D99ABD451...

**RILKE TADEU FONSECA DE FREITAS**  
Chefe do DZO/UFLA

**TESTEMUNHAS:**

DocuSigned by:  
  
6DBC55208D0644C...

Nome: **Marcio Machado Ladeira**

DS  


Nome: **Renata Lima**

## ANEXO I - PROJETO SIMPLIFICADO / PLANO DE TRABALHO

### CONTRATO DE COMODATO

#### I – DADOS CADASTRAIS DO PROJETO

##### 1. TÍTULO DO PROJETO

Uso de vitamina A injetável em vacas gestantes ou em bezerros sobre o desempenho, características de carcaça e qualidade da carne de novilhos

##### 2. ÓRGÃO EXECUTOR

**Departamento de Zootecnia**

##### 3. ÁREA DE ABRANGÊNCIA

- |  |  |
|--|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa | <input type="checkbox"/> Inovação Tecnológica          |
| <input type="checkbox"/> Extensão            | <input type="checkbox"/> Extensão Tecnológica          |
| <input type="checkbox"/> Ensino              | <input type="checkbox"/> Desenvolvimento Institucional |

##### 4. RESUMO DO PROJETO

O teor de gordura intramuscular é um aspecto extremamente importante para o mercado de carnes e que tem impacto nas características sensoriais vivenciadas pelo consumidor. Recentemente, diversas pesquisas são realizadas com o objetivo de modular e aumentar o marmoreio da carne, e nesse aspecto a vitamina A tem se mostrado como uma alternativa prática e de baixo custo para alcançar esses resultados. Diante disso, o objetivo deste estudo será avaliar os efeitos da injeção de vitamina A sobre o desempenho, características de carcaça, desenvolvimento dos tecidos muscular e adiposo, composição química e qualidade da carne de novilhos Angus × Nelore. Para isso, será utilizado um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos: injeção de vitamina A nas vacas gestantes (VAV), injeção de vitamina A nos bezerros (VAB) ou sem injeção de vitamina A (CON). No total, serão utilizados 46 animais. O experimento será iniciado com a injeção de vitamina A (2.000.000 UI dose única) nas vacas do tratamento VAV aos 250 dias de gestação. Os bezerros do tratamento VAB receberão duas doses de vitamina A (200.000 UI cada dose), uma ao nascimento e outra aos 40 dias de idade. Enquanto que os bezerros do tratamento CON não receberão nenhuma dose de vitamina A. Os bezerros serão pesados ao nascimento e no momento da desmama, para calcular o ganho de peso durante esse período, e será feita biópsia muscular para avaliação da expressão gênica aos 40 dias de idade e no momento do desmame. Após o desmame, os bezerros serão levados ao confinamento do Departamento de Zootecnia - UFLA e alocados por 150 dias até atingirem peso de abate. Ao final do confinamento, os animais serão abatidos em frigorífico comercial e serão coletadas amostras de músculo e de carne, para as análises de expressão gênica, composição química, qualidade de carne e carcaça.

#### II – DESCRIÇÃO DO PROJETO

##### 5. INTRODUÇÃO

A pecuária de corte brasileira está tradicionalmente ligada à produção de carne com baixo teor de gordura intramuscular e isso é devido a predominância do uso de raças zebuínas no rebanho nacional, as quais tem baixa predisposição à formação de tecido adiposo intramuscular, quando comparado às raças taurinas (PEREIRA et al., 2015; RODRIGUES et al., 2017). A baixa quantidade

de gordura intramuscular, ou marmoreio, está relacionado com uma experiência não tão positiva no consumo da carne, uma vez que a gordura intramuscular é importante característica para o desenvolvimento do sabor, suculência e maciez da carne (DODSON et al., 2010). Entretanto, nos últimos anos tem aumentado a utilização de raças taurinas no Brasil, principalmente Angus, para produção de animais ½ sangue e conseqüentemente melhorar a qualidade da carne.

O grau de marmoreio da carne é dependente dos processos de hiperplasia e hipertrofia dos adipócitos intramusculares (CIANZIO et al., 1985). A hiperplasia, ou seja, o aumento do número de células através do recrutamento destas para a linhagem adipogênica, é mais pronunciado no tecido adiposo intramuscular do final da gestação até os 250 dias de idade (DU; FORD; ZHU, 2017). Portanto, do nascimento ao desmame existe uma janela para maior proliferação de adipócitos intramusculares, comumente chamada de janela de marmoreio. Dessa forma, estratégias que possam impulsionar a produção de adipócitos durante a janela de marmoreio podem ser alternativas para aumentar o conteúdo de marmoreio da carne dos animais.

O processo angiogênico, que diz respeito à formação de vasos sanguíneos, está diretamente ligado ao processo adipogênico, uma vez que é através destes vasos que nutrientes e células indiferenciadas são transportadas até o tecido adiposo. Ainda, há indícios de que células situadas na parede desses vasos colaboram com a hiperplasia do tecido adiposo (GUPTA, R. K. et al., 2012). Em outras palavras, estimulando a angiogênese é possível aumentar o teor de gordura intramuscular.

A vitamina A tem grande impacto sobre o desenvolvimento dos tecidos muscular e adiposo (PENG; SMITH; LEE, 2021) e é capaz de provocar alterações no recrutamento de células indiferenciadas durante os estágios iniciais da vida de um bovino através de seu metabólito, o ácido retinóico, fazendo com que haja maior direcionamento destas células para a linhagem adipogênica, especialmente para os adipócitos intramusculares (HARRIS et al., 2018).

Um estudo prévio (HARRIS et al., 2018) avaliou a administração neonatal de vitamina A para bezerros com a aplicação de duas doses desta vitamina, sendo a primeira ao nascimento e a segunda aos 30 dias de vida, em animais Angus, no qual os autores identificaram o efeito positivo da vitamina A sobre a formação e deposição de tecido adiposo intramuscular. Os resultados de PENG et al. (2020) mostram que a suplementação oral de vitamina A durante o período neonatal melhorou o crescimento e o desenvolvimento muscular e de pré-adipócitos nos bezerros. Além disso, no recente estudo de JO et al. (2020), o fornecimento oral de vitamina A, durante o terço final da gestação, foi capaz de aumentar o peso ao nascer de bezerros e a expressão de genes relacionados ao desenvolvimento dos tecidos muscular e adiposo.

Diante do que foi descrito acima e com o crescente uso de animais cruzados de raças zebuínas e taurinas no Brasil com o objetivo de produzir carne com maior teor de gordura intramuscular para atender mercados de cortes especiais, torna-se importante buscar estratégias de manejo e nutricionais que permitam a obtenção deste tipo de produto. Caso contrário, se a adipogênese não for realizada de forma satisfatória durante o período gestacional, neonatal e até o desmame, muitos empreendimentos poderiam ter seus objetivos frustrados e com um grande desperdício de recursos financeiros.

A fim de se otimizar o manejo na fase de cria, a proposta do presente estudo é distribuir a administração da vitamina A em duas doses, uma ao nascimento e outra aos 40 dias, e fornecê-la também às matrizes gestantes no terço final da gestação (250 dias). Além disso, também avaliar este efeito em animais cruzados (F1 Angus x Nelore).

Portanto, a hipótese do projeto é que a injeção de vitamina A nos neonatos ou sua administração nas matrizes gestantes irá aumentar a deposição de gordura intramuscular em animais cruzados terminados em confinamento, por aumentar do número de adipócitos em função da maior expressão de genes angiogênicos, adipogênicos e lipogênicos. Além disso, a vitamina A também poderia ser capaz de melhorar o crescimento e desempenho dos animais.

## 6. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste estudo será avaliar os efeitos da injeção de vitamina A nos bezerros ou nas matrizes gestantes.

## 7. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar os efeitos da injeção de vitamina A em animais Angus  Nelore sobre:

- Desenvolvimento dos tecidos muscular e adiposo;
- Desempenho no confinamento;
- Características de carcaça;
- Composição química e perfil de ácidos graxos;
- Qualidade da carne.

## 8. JUSTIFICATIVA

O desenvolvimento e aprimoramento de tecnologias que possam aumentar a produtividade, qualidade e valor de venda dos produtos agropecuários nacionais é um aspecto importantíssimo dentro da cadeia produtiva. Com a alta representatividade da pecuária de corte no PIB do Brasil, que em 2019 foi de 8,5% do total (ABIEC, 2020), e a crescente demanda de exportação de carne nos últimos anos, é necessário que se agregue valor a carne brasileira para que aumente a competitividade no mercado internacional, além de abastecer o mercado nacional para carne de qualidade (alto teor de marmoreio).

Portanto, diante dos resultados de estudos prévios, a utilização da vitamina A como alternativa para aumentar a adipogênese e o teor de gordura intramuscular da carne tem-se mostrado como uma potencial alternativa. Entretanto, mais estudos ainda precisam ser conduzidos, envolvendo doses e grupos raciais, para sim se estabelecer uma recomendação certa de uso.

## 9. METODOLOGIA / FORMA DE DESENVOLVIMENTO

*Alimentação, animais, delineamento experimental, abate e amostragem das carnes*

Inicialmente, o experimento será dividido em duas fases: fase de cria e fase de confinamento. A fase de cria será realizada em fazenda comercial, que fará acordo com Setor de Gado de Corte do Departamento de Zootecnia, para posterior cessão dos animais por Contrato de Comodato entre o produtor rural e a UFLA logo após o desmame e início do confinamento. Já a parte do confinamento será realizada no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras. Serão utilizados 46 bezerros Angus × Nelore, do nascimento até a fase de terminação. O delineamento experimental será o inteiramente casualizado com três tratamentos: injeção de vitamina A nas vacas gestantes (VAV; 15 animais), injeção de vitamina A nos bezerros (VAB; 15 animais) ou sem injeção de vitamina A (CON; 16 animais).

Aos 250 dias de gestação, as vacas gestantes do tratamento VAV receberão uma dose de 2.000.000 UI de vitamina A (Monovin A, Bravet, Rio de Janeiro) via injeção intramuscular. Tanto ao nascimento quanto aos 40 dias de idade, todos os bezerros serão pesados, e aqueles do tratamento VAB receberão uma dose de vitamina A de 200.000 UI de Vitamina A (Monovin A, Bravet, Rio de Janeiro) via injeção intramuscular em cada um dos tempos, totalizando duas injeções por animal. Durante a fase de cria, os bezerros dos três tratamentos serão mantidos com suas

respectivas mães no mesmo piquete até o desmame. Esses animais receberão creep-feeding a partir de 90 dias até a desmama. Durante a fase inicial os bezerros serão vacinados contra pneumoenterite, carbúnculo sintomático e gangrena gasosa. O controle de verminoses ocorrerá antes do início da fase de terminação. O controle de aftosa será realizado conforme o calendário oficial de vacinação.

Aos 40 dias de idade e no momento do desmame (210 dias) será realizada uma biópsia muscular nos animais. Logo após o desmame também será realizada a pesagem dos animais para avaliar desempenho do nascimento até o desmame. As biópsias serão realizadas na altura da 13<sup>a</sup> costela de lados alternados em cada tempo. Para a realização da biópsia será feita a tricotomia na região lombar e administrado um anestésico local (cloridrato de lidocaína HCl, 20 mg/mL, 6 mL volume total) via subcutânea. O local da biópsia será limpo com um desinfetante para a pele (Iodophor/Betadine). Após a higienização, uma incisão de 1 cm será feita com um bisturi, e uma agulha esterilizada de biópsia Bergstrom (Eskilds Tuna, Suécia) será usada para obter 1 g de tecido do músculo longissimus thoracis, que será imediatamente armazenado em nitrogênio líquido para posterior análise de expressão de genes adipogênicos, lipogênicos, miogênicos e fibrogênicos. Após o procedimento, a incisão será lavada com solução salina estéril, água e fechada com cola de tecido veterinário. Um spray antibiótico será aplicado no local da incisão. Todos os bezerros serão monitorados durante um período de 48 horas pós-biópsia. Após o desmame, média de 210 dias, os bezerros serão levados ao confinamento do Departamento de Zootecnia - UFLA.

No início do confinamento, os animais serão submetidos ao manejo sanitário para prevenção de doenças respiratórias e controle de ecto e endoparasitas. Além disso serão submetidos a imunocastração (Bopriva, Zoetis). A dieta será formulada segundo o NASEM (2016) (Tabela 1), que será fornecida ad libitum, duas vezes ao dia, às 07h30 e 15h30. Para determinação do ganho de peso médio diário, os animais serão pesados no início e a cada 28 dias, até o final do período experimental. As pesagens iniciais e finais ocorrerão com e sem jejum de 16 horas.

Tabela 1. Composição de ingredientes da dieta experimental.

<b>Ingredientes</b>	<b>Inclusão %MS</b>
Silagem milho	21.982
Silagem grão úmido	37.585
Milho moído	30.41
Farelo de Soja	5.695
Ureia	1.025
Núcleo	3.303

Após 150 dias de confinamento, os animais serão abatidos em frigorífico comercial com inspeção federal, utilizando a técnica de concussão cerebral e secção da veia jugular, seguido de remoção do couro e evisceração. Após a esfolagem serão retiradas amostras do músculo longissimus thoracis da meia-carcaça esquerda na altura 13<sup>a</sup> costela e transportadas em nitrogênio líquido para análise de expressão de genes relacionados com adipogênese, miogênese, fibrogênese, lipogênese e lipólise.

Posteriormente, as carcaças serão divididas em duas metades para obtenção do peso de carcaça quente (PCQ) e do rendimento de carcaça quente (RCQ). Após as 24 horas de refrigeração, as meias-carcaças serão novamente pesadas para obtenção do peso de carcaça fria (PCF). Neste momento será realizada a leitura de espessura de gordura subcutânea (EGS) e área de olho de lombo (AOL).

Serão retiradas amostras do músculo longissimus thoracis da meia-carcaça esquerda a partir da 13<sup>a</sup> costela, em direção cranial, para análise da composição centesimal, perfil de ácidos graxos, perdas de peso e força de cisalhamento. Após o procedimento no frigorífico, as amostras de carne serão transportadas para a Universidade Federal de Lavras, local onde serão armazenadas para posterior análise. As amostras de expressão gênica e perfil de ácidos graxos serão armazenadas a -80°C enquanto as demais a -20°C.

#### Composição centesimal

A análise de composição centesimal será realizada usando o infravermelho próximo de acordo com o método 2007-04 da AOAC, através do equipamento FoodScan™ (FOSS, Hillerod, Dinamarca) no Laboratório de Qualidade de Carne do Departamento de Zootecnia da UFLA.

#### Perda de peso

Para a determinação da perda de peso por cozimento os bifes serão pesados e grelhados a 160 – 180°C até atingirem temperatura interna de 71°C (AMSA, 1995) monitorada por termômetro digital (TD-880 com termopar tipo K; ICEL Manaus, AM, Brasil) inseridos em seus centros geométricos. Posteriormente, cada bife será acondicionado à temperatura ambiente e após estabilização da temperatura, o bife será pesado e o resultado expresso em porcentagem.

#### Força de cisalhamento

A força de cisalhamento será obtida das mesmas amostras utilizadas para a perda de peso, de acordo com o método da Força de Cisalhamento Quadrado de Warner-Bratzler descrito por Silva et al. (2015). Amostras de seis núcleos com 1,0 × 1,0 × 2,5 cm serão obtidas de cada bife na direção da fibra muscular. O núcleo será completamente cisalhado perpendicularmente às fibras musculares com uma lâmina Warner-Bratzler de 1,016 mm a uma velocidade de 200 mm/min

acoplada a um medidor de textura TA.XT plus (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Surrey, Reino Unido). Será medida a força máxima (N) e o valor médio será calculado para cada bife.

#### Expressão gênica – RT-qPCR

Análise da expressão dos seguintes genes será realizada:

- Bezerros, após biópsia muscular aos 40 dias e desmame:
  - Genes angiogênicos:
  - Genes adipogênicos: C/EBP $\alpha$ , PPARG, Zfp423, Wnt
  - Genes miogênicos: MyOD, MyOG,  $\beta$ -catenina,
  
- Novilhos, após o abate:
  - Genes lipogênicos: PPARG, SREBF1, LPL, FABP4, ACACA, FASN e SCD1
  - Genes lipolíticos: CPT2 e ACOX
  - Genes para tipo de fibra: MyHC I, MyHC IIa e MyHC IIx

O RNA será extraído utilizando o reagente QIAzol (QIAGEN, Valência, CA) de acordo com as instruções do fabricante, a partir de amostras de músculo (80-100 mg) e homogeneizadas (IKA® T18 ULTRA-TURRAX® Basic Homogenizer, Wilmington, NC, USA) juntamente com 1 mL de reagente QIAzol. Adaptações serão realizadas em relação às quantidades de clorofórmio (300  $\mu$ L) e isopropanol (400  $\mu$ L), sendo a etapa de adição do clorofórmio realizada duas vezes. Para eliminação de eventuais contaminações das amostras, estas serão submetidas ao tratamento com DNase DNA free (Ambion, Austin, TX, EUA).

Para a avaliação da integridade das amostras extraídas, o RNA será submetido à eletroforese em gel de agarose 1,0% (m/v) corado com GelRed Nucleic Acid Gel Stain e visualizado em fotodocumentador E-Gel® Imager Camera Hood (Life Technologies, Neve Yamin, Israel) UVITEC Fire Reader XS D-77Ls-20M para análise das bandas 28S e 18S do RNA ribossomal (rRNA).

As amostras serão quantificadas em Nanoespectrofotômetro (DeNovix DS-11, Wilmington, DE, USA) a 260 nm com o objetivo de determinar a quantidade (ng/ $\mu$ L) e pureza (260/280 e 260/230) do RNA extraído. Após esses procedimentos as amostras de RNA serão armazenadas a -80°C.

A síntese de cDNA será feita com Kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) de acordo com as indicações do fabricante e, após o processo, as amostras serão armazenadas em freezer a -20°C para posterior análise.

Os primers para transcrição reversa em tempo real (RT-PCR) serão comercialmente sintetizados (Sigma-Aldrich Brasil Ltda). Os primers serão inicialmente testados usando o end-point da PCR para otimizar as condições de amplificação. Todos os produtos da PCR amplificados a partir

deste estudo também serão sequenciados para verificar a sua identidade. Análise de genes de referência será realizada utilizando a versão geNorm 3,4 Excel (Microsoft, Redmond, WA).

Para a análise da expressão gênica quantitativa por RT-qPCR será utilizado o modelo Mastercycler ep realplex (Eppendorf), utilizando o sistema de detecção SYBR Green (Applied Biosystems, USA) e o cDNA obtido a partir de RNA extraído. As condições térmicas de reação serão de 2 minutos a 50° C, 10 minutos a 95° C seguidos por 40 ciclos de 15 segundos 95° C e 1 minuto a 60° C e, finalizando com 15 segundos a 95° C. Para cada reação será utilizado 1,0 µL de cDNA, 0,3 µL de cada primer (forward e reverse) e 5,0 µL de Master Mix SYBR Green para um volume final de 10,0 µL/amostra em uma placa de reação com 96 poços MicroAmp Optical (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Os controles negativos e curvas de melting serão incluídos em todas as análises.

Todo o experimento de RT-qPCR, para cada gene em estudo será conduzido a partir de cDNAs diferentes obtidos a partir de oito repetições biológicas, com três réplicas técnicas para cada uma, sendo os resultados normalizados usando CTs (Ciclo Threshold) obtidos pela expressão de três genes de referência mais estável para o experimento. Para testar a estabilidade dos genes seis genes de referência serão testados e a melhor combinação individual ou combinada de controle endógeno será escolhida usando a ferramenta baseada na Web RefFinder, na qual integra os principais programas computacionais atualmente disponíveis, incluindo os quatro algoritmos usados comumente GeNorm, NormFinder, BestKeeper e método  $\Delta Ct$  comparativo, para avaliar a referência mais estável em todos os tratamentos do estudo.

Como um dos requisitos necessários para a utilização deste método, será realizado um ensaio de validação para mostrar que as eficiências de amplificação dos genes alvo e de referências são aproximadamente iguais. Para isto, serão realizadas curvas padrões para os genes em estudo nas seguintes diluições: 1:5, 1:25, 1:125, 1:625 e 1:3125.

Os níveis de expressão relativos serão calculados de acordo com o método descrito por Pfaffl (2001) que se baseia nos valores de Ct que são corrigidos para a eficiência de amplificação para cada par de primers.

#### Análise estatística

Os dados serão analisados para os dados individuais (72 animais) considerando a baía como unidade experimental (8 baias/tratamento), de acordo com ST-PIERRE (2007).

Desempenho, características de carcaça, composição química, perdas de peso e força de cisalhamento serão analisados com o Procedimento MIXED do software SAS 9.4 (SAS Inst. Inc., Cary, NC), considerando o peso da vaca como covariável, a baía como unidade experimental, o tratamento como efeito fixo e a baía aninhada no tratamento como efeito aleatório.

Para expressão gênica será utilizado o teste de Shapiro-Wilk para analisar a normalidade dos dados. Quando os dados não apresentarem distribuição normal, serão

transformados utilizando o Procedimento RANK do SAS 9.4. Posteriormente, os dados serão submetidos à análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey para determinar as diferenças estatísticas entre as médias dos diferentes tratamentos, por meio do Procedimento MIXED do SAS 9.4. Os valores de  $P < 0,05$  serão considerados significativos, e tendências quando  $0,05 < P \leq 0,10$ .

## 10. RESULTADOS ESPERADOS

Espera-se que a aplicação da vitamina A nos bezerros ou nas vacas aumente a adipogênese e a lipogênese por meio do aumento da expressão de genes relacionados e, conseqüentemente, aumente também o teor de gordura intramuscular (marmoreio) da carne. Se comprovada a hipótese, será possível traçar estratégias de baixo custo e fácil manejo para aproveitar a janela de marmoreio e estimular a adipogênese e lipogênese em bovinos de corte, trazendo benefícios para a cadeia de produção de carne de qualidade (alto marmoreio). A comprovação dessa hipótese também estimularia novos estudos na área de programação do desenvolvimento fetal ou programação neonatal, que podem envolver outras dosagens, formas de administração, como até novas substâncias e não somente Vitaminas.

Além disso, com os resultados dessa pesquisa, poderá ser realizada a divulgação científica para sociedade, mostrando a possibilidade de utilizar uma tecnologia prática e de fácil aplicabilidade para melhorar a qualidade do produto que está sendo produzido.

## III – PRAZO DO COMODATO

### 11. PRAZO EM QUE OS SEMOVENTES PERMANECERÃO SOB POSSE DA UFLA

**150 dias**

## IV – PLANO DE TRABALHO DO COMODATO

### 12. SERVIDOR RESPONSÁVEL PELA GUARDA DOS ANIMAIS

Função no Projeto Coordenador	Nome Marcio Machado Ladeira	CPF [REDACTED]
Instituição UFLA	Cargo/Função: Professor Magistério Superior	

### 13. ESPECIFICAÇÕES DOS ANIMAIS

QUANTIDADE	RAÇA	IDADE	PESO	SEXO
46	F1 Angus Nelore	7 meses	230 kg	Machos e Fêmeas
CARACTERÍSTICAS VISUAIS		CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS		FAIXA DE PREÇO POR ANIMAL
Animais com condição corporal 6 e de pelagem preta		Animais filhos do mesmo pai, ou seja, todos meio irmãos e fruto do cruzamento de touro Angus com vaca Nelore		R\$ 2.800,00

**14. CRONOGRAMA**

FASE DO PROJETO EM QUE SERÃO UTILIZADOS OS ANIMAIS	ATIVIDADES A SEREM DESENVOLVIDAS	PERÍODO (em meses)
Confinamento e abate	Alimentação dos animais, pesagens, biópsias e abate	5

**V – APROVAÇÃO DO PROJETO**

Aprovado

Documento assinado digitalmente  
RILKE TADEU FONSECA DE FREITAS  
Data: 10/03/2023 21:06:23-0300  
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Projeto e plano de trabalho aprovados nos termos da Portaria - FZMV nº 06, de 23 de março de 2023

**Certificado de Conclusão**

Identificação de envelope: E68660AA291E4264A6AD61636B524992

Status: Concluído

Assunto: Complete com a DocuSign: CNT Comodato nº 22-2023.pdf

Envelope fonte:

Documentar páginas: 14

Assinaturas: 5

Certificar páginas: 5

Rubrica: 21

Assinatura guiada: Ativado

Selo com Envelopeld (ID do envelope): Ativado

Fuso horário: (UTC-03:00) Brasília

Remetente do envelope:

Cláudia Salgado Gomes

SCN Quadra 02 Bloco A, no 190, sala 504 PARTE

o-1, Asa Sul

Brasília, 70.712-900

claudia.salgado@ufla.br

Endereço IP: 177.105.33.122

**Rastreamento de registros**

Status: Original

Portador: Cláudia Salgado Gomes

Local: DocuSign

18/04/2023 07:43:00

claudia.salgado@ufla.br

**Eventos do signatário**

João Chrysostomo de Resende Junior

joaocrj@ufla.br

Nível de segurança: E-mail, Autenticação da conta (Nenhuma)

**Assinatura**

DocuSigned by:

  
2439E966308C404...

Adoção de assinatura: Imagem de assinatura carregada

Usando endereço IP: 179.135.7.88

Assinado com o uso do celular

**Registro de hora e data**

Enviado: 18/04/2023 07:49:17

Visualizado: 18/04/2023 08:05:45

Assinado: 18/04/2023 08:09:02

Assinatura de forma livre

**Termos de Assinatura e Registro Eletrônico:**

Aceito: 18/04/2023 08:05:45

ID: cebbef10-bf2e-490f-83f2-2c75f866e22b

Márcio Machado Ladeira

mladeira@ufla.br

Nível de segurança: E-mail, Autenticação da conta (Nenhuma)

DocuSigned by:

  
6DBC55208D0644C...

Adoção de assinatura: Estilo pré-selecionado

Usando endereço IP: 177.105.30.158

Enviado: 18/04/2023 07:49:19

Visualizado: 25/04/2023 08:12:39

Assinado: 25/04/2023 08:14:19

Assinatura de forma livre

**Termos de Assinatura e Registro Eletrônico:**

Aceito: 25/04/2023 08:12:39

ID: dad9c741-dafc-48ce-84eb-4fa13397e6f6

MATEUS PEZZATO SANTIAGO

mat.santiago@hotmail.com

Nível de segurança: E-mail, Autenticação da conta (Nenhuma)

DocuSigned by:

  
F0C0B97B7DBF439...

Adoção de assinatura: Desenhado no dispositivo

Usando endereço IP: 152.255.98.174

Assinado com o uso do celular

Enviado: 18/04/2023 07:49:18

Visualizado: 30/04/2023 12:30:28

Assinado: 30/04/2023 12:33:40

Assinatura de forma livre

**Termos de Assinatura e Registro Eletrônico:**

Aceito: 30/04/2023 12:30:28

ID: 192bde3a-5106-4a4f-a115-910560fb8f63

Renata Lima

parcerias@ufla.br

Nível de segurança: E-mail, Autenticação da conta (Nenhuma)

DS  


Adoção de assinatura: Imagem de assinatura carregada

Usando endereço IP: 177.105.33.104

Enviado: 18/04/2023 07:49:18

Visualizado: 18/04/2023 08:20:31

Assinado: 18/04/2023 08:25:14

Assinatura de forma livre

Eventos do signatário	Assinatura	Registro de hora e data
-----------------------	------------	-------------------------

**Termos de Assinatura e Registro Eletrônico:**

Aceito: 18/04/2023 08:20:31

ID: 18d05168-b50a-43b1-9fa0-805749d61ed3

RILKE TADEU FONSECA DE FREITAS

rilke.chefiadzo@ufla.br

Nível de segurança: E-mail, Autenticação da conta (Nenhuma)



Adoção de assinatura: Desenhado no dispositivo

Usando endereço IP: 200.115.117.59

Assinado com o uso do celular

Enviado: 18/04/2023 07:49:18

Visualizado: 30/04/2023 22:05:55

Assinado: 02/05/2023 19:56:56

Assinatura de forma livre

**Termos de Assinatura e Registro Eletrônico:**

Aceito: 30/04/2023 22:05:55

ID: 050f168c-49fa-4e0e-989c-bed3c9702122

Eventos do signatário presencial	Assinatura	Registro de hora e data
----------------------------------	------------	-------------------------

Eventos de entrega do editor	Status	Registro de hora e data
------------------------------	--------	-------------------------

Evento de entrega do agente	Status	Registro de hora e data
-----------------------------	--------	-------------------------

Eventos de entrega intermediários	Status	Registro de hora e data
-----------------------------------	--------	-------------------------

Eventos de entrega certificados	Status	Registro de hora e data
---------------------------------	--------	-------------------------

Eventos de cópia	Status	Registro de hora e data
------------------	--------	-------------------------

Eventos com testemunhas	Assinatura	Registro de hora e data
-------------------------	------------	-------------------------

Eventos do tabelião	Assinatura	Registro de hora e data
---------------------	------------	-------------------------

Eventos de resumo do envelope	Status	Carimbo de data/hora
-------------------------------	--------	----------------------

Envelope enviado

Com hash/criptografado

18/04/2023 07:49:19

Entrega certificada

Segurança verificada

30/04/2023 22:05:55

Assinatura concluída

Segurança verificada

02/05/2023 19:56:56

Concluído

Segurança verificada

02/05/2023 19:56:56

Eventos de pagamento	Status	Carimbo de data/hora
----------------------	--------	----------------------

**Termos de Assinatura e Registro Eletrônico**

## **ELECTRONIC RECORD AND SIGNATURE DISCLOSURE**

From time to time, Petacorp OBO UFLA (we, us or Company) may be required by law to provide to you certain written notices or disclosures. Described below are the terms and conditions for providing to you such notices and disclosures electronically through the DocuSign system. Please read the information below carefully and thoroughly, and if you can access this information electronically to your satisfaction and agree to this Electronic Record and Signature Disclosure (ERSD), please confirm your agreement by selecting the check-box next to 'I agree to use electronic records and signatures' before clicking 'CONTINUE' within the DocuSign system.

### **Getting paper copies**

At any time, you may request from us a paper copy of any record provided or made available electronically to you by us. You will have the ability to download and print documents we send to you through the DocuSign system during and immediately after the signing session and, if you elect to create a DocuSign account, you may access the documents for a limited period of time (usually 30 days) after such documents are first sent to you. After such time, if you wish for us to send you paper copies of any such documents from our office to you, you will be charged a \$0.00 per-page fee. You may request delivery of such paper copies from us by following the procedure described below.

### **Withdrawing your consent**

If you decide to receive notices and disclosures from us electronically, you may at any time change your mind and tell us that thereafter you want to receive required notices and disclosures only in paper format. How you must inform us of your decision to receive future notices and disclosure in paper format and withdraw your consent to receive notices and disclosures electronically is described below.

### **Consequences of changing your mind**

If you elect to receive required notices and disclosures only in paper format, it will slow the speed at which we can complete certain steps in transactions with you and delivering services to you because we will need first to send the required notices or disclosures to you in paper format, and then wait until we receive back from you your acknowledgment of your receipt of such paper notices or disclosures. Further, you will no longer be able to use the DocuSign system to receive required notices and consents electronically from us or to sign electronically documents from us.

### **All notices and disclosures will be sent to you electronically**

Unless you tell us otherwise in accordance with the procedures described herein, we will provide electronically to you through the DocuSign system all required notices, disclosures, authorizations, acknowledgements, and other documents that are required to be provided or made available to you during the course of our relationship with you. To reduce the chance of you inadvertently not receiving any notice or disclosure, we prefer to provide all of the required notices and disclosures to you by the same method and to the same address that you have given us. Thus, you can receive all the disclosures and notices electronically or in paper format through the paper mail delivery system. If you do not agree with this process, please let us know as described below. Please also see the paragraph immediately above that describes the consequences of your electing not to receive delivery of the notices and disclosures electronically from us.

### **How to contact Petacorp OBO UFLA:**

You may contact us to let us know of your changes as to how we may contact you electronically, to request paper copies of certain information from us, and to withdraw your prior consent to receive notices and disclosures electronically as follows:

To contact us by email send messages to: [chalfunjunior@ufla.br](mailto:chalfunjunior@ufla.br)

### **To advise Petacorp OBO UFLA of your new email address**

To let us know of a change in your email address where we should send notices and disclosures electronically to you, you must send an email message to us at [chalfunjunior@ufla.br](mailto:chalfunjunior@ufla.br) and in the body of such request you must state: your previous email address, your new email address. We do not require any other information from you to change your email address.

If you created a DocuSign account, you may update it with your new email address through your account preferences.

### **To request paper copies from Petacorp OBO UFLA**

To request delivery from us of paper copies of the notices and disclosures previously provided by us to you electronically, you must send us an email to [chalfunjunior@ufla.br](mailto:chalfunjunior@ufla.br) and in the body of such request you must state your email address, full name, mailing address, and telephone number. We will bill you for any fees at that time, if any.

### **To withdraw your consent with Petacorp OBO UFLA**

To inform us that you no longer wish to receive future notices and disclosures in electronic format you may:

- i. decline to sign a document from within your signing session, and on the subsequent page, select the check-box indicating you wish to withdraw your consent, or you may;
- ii. send us an email to [chalfunjunior@ufla.br](mailto:chalfunjunior@ufla.br) and in the body of such request you must state your email, full name, mailing address, and telephone number. We do not need any other information from you to withdraw consent.. The consequences of your withdrawing consent for online documents will be that transactions may take a longer time to process..

### **Required hardware and software**

The minimum system requirements for using the DocuSign system may change over time. The current system requirements are found here: <https://support.docusign.com/guides/signer-guide-signing-system-requirements>.

### **Acknowledging your access and consent to receive and sign documents electronically**

To confirm to us that you can access this information electronically, which will be similar to other electronic notices and disclosures that we will provide to you, please confirm that you have read this ERSD, and (i) that you are able to print on paper or electronically save this ERSD for your future reference and access; or (ii) that you are able to email this ERSD to an email address where you will be able to print on paper or save it for your future reference and access. Further, if you consent to receiving notices and disclosures exclusively in electronic format as described herein, then select the check-box next to ‘I agree to use electronic records and signatures’ before clicking ‘CONTINUE’ within the DocuSign system.

By selecting the check-box next to ‘I agree to use electronic records and signatures’, you confirm that:

- You can access and read this Electronic Record and Signature Disclosure; and
- You can print on paper this Electronic Record and Signature Disclosure, or save or send this Electronic Record and Disclosure to a location where you can print it, for future reference and access; and
- Until or unless you notify Petacorp OBO UFLA as described above, you consent to receive exclusively through electronic means all notices, disclosures, authorizations, acknowledgements, and other documents that are required to be provided or made available to you by Petacorp OBO UFLA during the course of your relationship with Petacorp OBO UFLA.