

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**  
**CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ALTERAÇÕES METABOLÔMICAS RELACIONADAS AO  
DESEMPENHO PRODUTIVO E CARACTERÍSTICAS DE  
CARÇA DE BOVINOS NELORE TERMINADOS EM  
CONFINAMENTO**

**José Breno da Silva Moreira**

**Zootecnista**

**2025**

**D  
I  
S  
S**

**/**

**M  
O  
R  
E  
I  
R  
A**

**J.  
B.  
S.**

**2  
0  
2  
5**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**  
**CAMPUS DE JABOTICABAL**

**ALTERAÇÕES METABOLÔMICAS RELACIONADAS AO  
DESEMPENHO PRODUTIVO E CARACTERÍSTICAS DE  
CARÇA DE BOVINOS NELORE TERMINADOS EM  
CONFINAMENTO**

**Discente: José Breno da Silva Moreira**  
**Orientador: Prof. Dr. Welder Angelo Baldassini**  
**Coorientador: Dr. Rodrigo Nazaré Santos Torres**

**Dissertação apresentada à Faculdade  
de Ciências Agrárias e Veterinárias –  
Unesp, Campus de Jaboticabal, como  
parte das exigências para a obtenção do  
título de Mestre em Ciência Animal.**

M838a      Moreira, José Breno da Silva

Alterações metabôlicas relacionadas ao desempenho produtivo e características de carcaça de bovinos nelore terminados em confinamento / José Breno da Silva Moreira / José Breno da Silva Moreira. -- Jaboticabal, 2025

64 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Welder Angelo Baldassini

Coorientador: Rodrigo de Nazaré Santos Torres

1. Crescimento. 2. Desemepnho. 3. Ressonância magnética nuclear. 4. Metabólitos. I. Título.

## **IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA**

Considerando a importância da pecuária de corte para o desenvolvimento econômico e social do Brasil, esta pesquisa apresenta impacto significativo na melhoria da eficiência produtiva de bovinos. A partir da identificação e quantificação de metabólitos associados a diferentes taxas de crescimento, os resultados oferecem subsídios para o uso da metabolômica como ferramenta para entender o metabolismo animal, o que pode auxiliar no manejo nutricional mais eficiente. Os dados metabólicos relacionados ao alto desempenho pode contribuir para a redução do tempo de terminação, melhor aproveitamento dos insumos e menor impacto ambiental, uma vez que animais mais eficientes utilizam menos recursos para produzir a mesma quantidade de carne. Isso se alinha a estratégias de produção mais sustentáveis e competitivas. Além disso, os achados contribuem com o avanço da ciência animal ao integrar biotecnologia e nutrição, possibilitando uma abordagem mais precisa e inovadora para o melhoramento da produção. A aplicação prática dos resultados pode beneficiar produtores, consumidores e o meio ambiente, promovendo maior sustentabilidade, segurança alimentar e eficiência na cadeia produtiva da carne bovina brasileira.

## **POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH**

Considering the importance of beef cattle production for Brazil's economic and social development, this research presents a significant impact on improving the productive efficiency of cattle. By identifying and quantifying metabolites associated with different growth rates, the results provide support for the use of metabolomics as a tool to better understand animal metabolism, which can aid in more efficient nutritional management. Metabolic data linked to high performance may contribute to reducing finishing time, optimizing input use, and lowering environmental impact, since more efficient animals require fewer resources to produce the same amount of meat. This aligns with more sustainable and competitive production strategies. Furthermore, the findings advance animal science by integrating biotechnology and nutrition, enabling a more precise and innovative approach to improving livestock production. The practical application of these results can benefit producers, consumers, and the environment by promoting greater sustainability, food security, and efficiency throughout the Brazilian beef production chain.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ALTERAÇÕES METABOLÔMICAS RELACIONADAS AO DESEMPENHO PRODUTIVO E CARACTERÍSTICAS DE CARÇAÇA DE BOVINOS NELORE TERMINADOS EM CONFINAMENTO

**AUTOR: JOSÉ BRENO DA SILVA MOREIRA**

**ORIENTADOR: WELDER ANGELO BALDASSINI**

**COORDINADOR: RODRIGO DE NAZARÉ SANTOS TORRES**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência Animal, área: Nutrição Animal pela Comissão Examinadora:

Prof.Ass.Dr. WELDER ANGELO BALDASSINI (Participação Virtual)  
Departamento de Melhoramento e Nutricao Animal / FMVZ UNESP Botucatu

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** WELDER ANGELO BALDASSINI  
Data: 14/03/2025 09:26:03-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. NARA REGINA BRANDAO CÔNSOLO (Participação Virtual)  
Departamento de Nutrição e Produção Animal / FMVZ USP Pirassununga

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** NARA REGINA BRANDAO CONSOLO  
Data: 14/03/2025 10:42:52-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. ROGERIO ABDALLAH CURI (Participação Virtual)  
Departamento de Melhoramento e Nutricao Animal / FMVZ UNESP Botucatu

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** ROGERIO ABDALLAH CURI  
Data: 17/03/2025 08:55:06-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Jaboticabal, 13 de março de 2025

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

**JOSÉ BRENO DA SILVA MOREIRA** – filho de José Nemésio Moreira e Maria Luciene da Silva Moreira. Nasceu em 09 de abril de 1999, na cidade de Fortaleza, Ceará. Zootecnista pela Universidade Federal do Ceará (UFC), com período sanduíche na École Supérieure d'Agricultures d'Angers (França), por meio do Programa BRAFAGRI-CAPEL. Foi bolsista de Iniciação Científica, auxiliando em pesquisas relacionadas ao manejo de pastagens irrigadas e em sequeiro, consórcio entre leguminosas e gramíneas, níveis tecnológicos de adubação nitrogenada, sensoriamento remoto, modelagem em ecossistemas pastoris e manejo e produção de ovinos. Além disso, foi estagiário da empresa RAV Tecnologias, auxiliando na criação de softwares de gestão e monitoramento da pecuária, e estagiário do Instituto Nacional de Pesquisa Agrônômicas, Alimentação e Meio ambiente (INRAE) na França, atuando com produção e qualidade de leite de cabras. Ingressou no mestrado no primeiro semestre de 2023, onde trabalhou nas áreas de Nutrição de Ruminantes e Qualidade de Carne. Durante o mestrado, realizou um período de capacitação na Washington State University, trabalhando com sistemas *in vitro* de avaliação de dietas, pelo programa CAPES-PRINT.

## EPIGRAFE

“Não existe triunfo sem perda, não há vitória sem sofrimento, não há liberdade sem sacrifício.”

*Inspirado em O Senhor dos Anéis.*

*À Santíssima Trindade.  
Aos meus pais, Lúcia e Memésio, que debaixo de  
muito sol e peleja, me fizeram chegar aqui na sombra.*

*Dedico*

## **AGRADECIMENTOS**

À Santíssima Trindade e à Virgem Maria, por tudo que tem me proporcionado e por terem me amparado quando tudo parecia incerto.

Aos meus pais, Maria Luciene e José Nemésio, por terem me ensinado tanto e por serem um exemplo de perseverança.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, por ter proporcionado todo o suporte necessário para a conclusão deste curso.

Ao meu orientador, Welder Angelo Baldassini, e ao meu coorientador, Rodrigo de Nazaré Santos Torres, por todos os momentos de ensinamentos e pela paciência e dedicação durante o período de orientação.

Ao meu orientador durante o período no exterior, Marcos Inácio Marcondes, por ter possibilitado essa experiência ímpar na minha formação, pelos ensinamentos, atenção e confiança a mim depositada.

A todos os integrantes do MeatLab botucatu, por todos os momentos de parceria e descontração durante a realização das análises e condução dos experimentos.

A Richard Ribeiro Vaquero, meu parceiro de experimento, a Carlos Eduardo Bueno e a todos os estagiários por toda dedicação durante o período experimental.

Aos amigos que fiz em Pullman, em especial aos moradores da Pilimco's House e a Joel Velasco, por todos os momentos de risada e choro compartilhado.

À Isabelle Guedes Porto, por toda amizade e suporte, por ter estado ao meu lado durante os momentos de desespero e pelos conselhos valiosos.

Aos meus queridos amigos da Casa 8, Paloma Leandra Garcia Melo e José Alves dos Santos Júnior, por todos os momentos de risada, de companheirismo, de apoio, de memes e de confiança. Serei eternamente grato a vocês por tudo que fizeram e fazem por mim, afinal é bísnaga ou bisgana?

A mim mesmo, por ter perseverado, mesmo perante a tantos desafios.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## SUMÁRIO

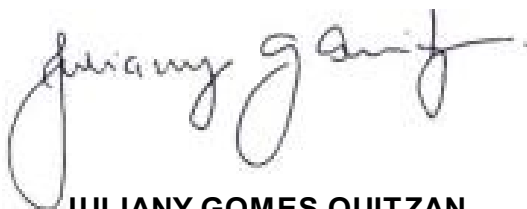
ATESTADO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS .....	i
LISTA DE ABREVIACÕES .....	ii
LISTA DE TABELAS .....	iii
LISTA DE FIGURAS .....	iv
RESUMO .....	v
ABSTRACT .....	vi
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	1
1.1. INTRODUÇÃO .....	1
1.2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
1.2.1. Aspectos gerais sobre o metabolismo em ruminantes .....	3
1.2.2. Efeitos do confinamento no metabolismo de bovinos .....	6
1.2.3. Taxa de crescimento em bovinos .....	8
1.2.4. Relação entre taxa de crescimento e o metabolismo.....	11
1.2.5. Metabolômica como ferramenta na produção animal.....	13
CAPÍTULO 2 - METABOLÔMICA DO SANGUE REVELA ALTERAÇÕES NO METABOLISMO ENERGÉTICO DE BOVINOS NELORE COM DIFERENTES TAXAS DE CRESCIMENTO .....	21
RESUMO .....	21
ABSTRACT .....	22
2.1. INTRODUÇÃO .....	23
2.2. MATERIAL E MÉTODOS .....	24
2.2.1. Localização, animais e tratamentos .....	25
2.2.3. Preparação das amostras e obtenção dos espectros de NMR.....	27
2.2.4. Bioinformática e análises estatísticas.....	28
2.3. RESULTS .....	30
2.3.1. Desempenho .....	30
2.3.2. Metabolômica.....	30
2.4. DISCUSSÃO .....	35
2.5. CONCLUSÃO .....	39
REFERÊNCIAS .....	40

## ATESTADO

**Atesto** que o Projeto "USO COMBINADO DE ADITIVOS NUTRICIONAIS EM DIETAS DE ADAPTAÇÃO PARA BOVINOS CONFINADOS" **Protocolo CEUA 0585/2023**, a ser conduzido por Richard Vaquero Ribeiro, responsável/orientador Otávio Rodrigues Machado Neto, para fins de pesquisa científica/ensino - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

<b>Finalidade</b>	PESQUISA CIENTÍFICA
<b>Vigência do projeto</b>	03/03/2024 a 05/07/2024
<b>Nome Comum / Espécie / Linhagem</b>	BOVINA / BOS INDICUS /
<b>Raça</b>	Nelore
<b>Nº de animais machos</b>	120
<b>Nº de animais fêmeas</b>	0
<b>Nº de animais sexo indefinido</b>	0
<b>Peso médio de animais machos</b>	390 Kg
<b>Peso médio de animais fêmeas</b>	0
<b>Peso médio de animais sexo indefinido</b>	0
<b>Idade</b>	2 ano(s) e 0 mes(es) e 0 dia(s).
<b>Procedência</b>	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

**Projeto de Pesquisa aprovado em reunião da CEUA em 09/02/2024**



**JULIANY GOMES QUITZAN**

Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu

**LISTA DE ABREVIACOES**

1D	Uma dimensão
<sup>1</sup> H-NMR	Ressonância magnética nuclear de prótons
2-HIB	2-hidroisobutirato
AGCR	cido graxo de cadeia ramificada
AGI	cido graxo insaturado
AGCCs	cidos Graxos de cadeia curta
AOL	rea de olho de lombo
ATP	Adenosina trifosfato
CAR	Consumo alimentar residual
CTE	Cadeia transportadora de elétrons
CMS	Consumo de matéria seca
DDG	Grãos de destilaria secos
EA	Eficiência alimentar
EGS	Espessura de gordura subcutânea
ERO	Espécie reativa de oxignio
GMD	Ganho médio diário
MS	Matéria seca
MSEA	Análises de enriquecimento de vias metabólicas
NNP	Nitrogênio não proteico
PCQ	Peso de carcaça quente
PDR	Proteína degradada no rúmen
PLS-DA	Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais
PM	Proteína microbiana
PNDR	Proteína não degradada no rúmen
PVf	Peso vivo final
RC	Rendimento de carcaça
TCA	cido tricarbxlico
VIP	Análise de projeo do valor de importância

## LISTA DE TABELAS

Página

### CAPÍTULO 2

Tabela 1. Componentes e composição das dietas utilizadas durante o experimento .....	25
Tabela 2. Desempenho e características de carcaça de bovinos nelore de alta e baixa taxa de crescimento durante a fase de terminação .....	30
Tabela 3. Análise descritiva das concentrações dos metabólitos (mM) .....	30

**LISTA DE FIGURAS**

Página

**CAPÍTULO 2**

Figura 1. Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) do perfil metabólico do sangue de novilhos Nelore com diferentes taxas de crescimento no confinamento. HP = alta taxa de crescimento; LP = Baixa taxa de crescimento ..... 32

Figura 2. Projeção de variáveis de importância (VIP) do perfil metabólico do sangue de bovinos Nelore com diferentes taxas de crescimento no confinamento. HP = alta taxa de crescimento; LP = Baixa taxa de crescimento..... 33

Figura 3. Resultados do enriquecimento de vias metabólicas do sangue de bovinos Nelore com diferentes taxas de crescimento no confinamento. HP (alta taxa de crescimento) versus LP (Baixa taxa de crescimento). ..... 34

Figura 4. Correlação entre metabolitos de importantes para diferenciação do desempenho e o ganho médio diário (GMD) em bovinos Nelore com diferentes taxas de crescimento no confinamento. HP (alta taxa de crescimento) versus LP (Baixa taxa de crescimento). ..... 34

## RESUMO

Para maximizar a eficiência produtiva, é fundamental entender como o metabolismo animal se adapta a diversos tipos de sistema de produção. Neste estudo, objetivou-se identificar e quantificar metabólitos plasmáticos em bovinos de corte com diferentes taxas de crescimento durante a terminação em confinamento. Foram utilizados 120 bovinos Nelore (*Bos indicus*), machos não castrados, com peso médio inicial de  $387 \pm 14$  kg e com  $24 \pm 2$  meses de idade. Os animais foram confinados por 115 dias, recebendo dieta total de terminação composta por milho grão moído (51,0%), grãos secos de destilaria (17,7%), polpa cítrica (15,9%), bagaço de cana (12,0%) e núcleo (3,4 %). Ao final da primeira etapa da adaptação, foram escolhidos aleatoriamente 40 animais para coleta de sangue. Ao final do período experimental, do *subset* de 40 bovinos, foram selecionados 24 animais e divididos em dois grupos experimentais de: alta (HP =12) e baixa (LP=12) taxa de crescimento com base no ganho de peso médio diário (GMD). O sangue coletado utilizado para extração e quantificação dos metabólitos por meio de ressonância magnética nuclear (H-NMR). Dados de área de olho de lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS), peso de carcaça quente (PCQ) e rendimento de carcaça (RC) foram obtidos via ultrassom no final da terminação. O desempenho dos animais foi influenciado pela taxa de crescimento, sendo observado nos animais HP maiores eficiência alimentar, PCQ e EGS ( $P < 0,05$ ). Foram identificados 47 metabólitos no soro sanguíneo desses animais. Bovinos do grupo HP apresentaram maior concentração de treonina, glicolato, histidina e creatinina ( $P < 0,05$ ), enquanto o grupo LP apresentou maior concentração de fenilamina, succinato, acetato, asparagina e 2-hidroxisobutirato ( $P < 0,05$ ). Dentre as vias enriquecidas, destacam-se cadeia transportadora de elétrons mitocondrial ( $P = 0,06$ ), degradação do etanol ( $P = 0,08$ ) e oxidação da treonina e 2-oxobutanoato ( $P = 0,09$ ). Os resultados encontrados indicaram maior atividade no metabolismo energético em animais HP, apresentando uma maior diversificação dos substratos para geração de energia. Animais LP possivelmente apresentam uma ineficiência na cadeia transportadora de elétrons, diminuindo sua eficiência de utilização de energia e impactando o desempenho.

**Palavras-chave:** Crescimento, desempenho, ganho médio diário, ressonância magnética nuclear, vias metabólicas

## ABSTRACT

To maximize productive efficiency, it is essential to understand how animal metabolism adapts to different types of production systems. The objective of this study was to identify and quantify plasma metabolites in feedlot-finished beef cattle with divergent growth rates. A total of 120 non-castrated Nellore (*Bos indicus*) bulls were used, with an initial average body weight of  $387 \pm 14$  kg and an average age of  $24 \pm 2$  months. The animals were housed in a feedlot for 115 days and received a finishing total mixed ration composed of ground corn grain (51.0%), dried distillers grains (17.7%), citrus pulp (15.9%), sugarcane bagasse (12.0%), and a mineral-vitamin premix (3.4%). At the end of the first step of adaptation, 40 animals were randomly selected for blood sampling. At the end of the experimental period, from this subset of 40 animals, 24 were selected and divided into two experimental groups: high (HP = 12) and low (LP = 12) growth rate, based on average daily gain (ADG). Blood samples were used for metabolite extraction and quantification by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy ( $^1\text{H-NMR}$ ). Data on longissimus muscle area (LMA), backfat thickness (BFT), hot carcass weight (HCW), and dressing percentage (DP) were obtained via ultrasound at the end of the finishing period. Animal performance was influenced by growth rate, with HP animals showing greater feed efficiency, HCW, and BFT ( $P < 0.05$ ). A total of 47 serum metabolites were identified. HP animals presented higher concentrations of threonine, glycolate, histidine, and creatinine ( $P < 0.05$ ), while the LP group showed higher concentrations of phenylalanine, succinate, acetate, asparagine, and 2-hydroxyisobutyrate ( $P < 0.05$ ). Among the enriched metabolic pathways, the mitochondrial electron transport chain ( $P = 0.06$ ), ethanol degradation ( $P = 0.08$ ), and threonine and 2-oxobutanoate degradation ( $P = 0.09$ ) were noteworthy. The findings indicate higher activity in energy metabolism in HP animals, with greater substrate diversity for energy production. Conversely, LP animals may present inefficiencies in the electron transport chain, reducing their energy utilization efficiency and negatively impacting performance.

**Keywords:** Average daily gain, growth, metabolic pathways, nuclear magnetic resonance, performance

## **CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS**

### **1.1. INTRODUÇÃO**

As proteínas de origem animal desempenham papel fundamental na alimentação humana, com destaque para a carne bovina devido ao seu perfil de aminoácidos essenciais e à presença de vitaminas do complexo B, indispensáveis para o crescimento e a manutenção da saúde (Scollan et al., 2017). Nas últimas décadas, o Brasil consolidou-se como um dos principais produtores e exportadores de carne bovina, sendo responsável por aproximadamente 18% da produção mundial (MAPA, 2024). Esse destaque reforça a importância da cadeia produtiva para a economia nacional, que movimentou mais de 60 bilhões de reais em 2023 e classificou a carne bovina como o segundo principal produto do agronegócio brasileiro (IBGE, 2023).

Entretanto, apesar de ser um dos principais agentes globais na cadeia produtiva da carne, o Brasil permanece abaixo do seu potencial de produtividade (Greenwood, 2021). Ainda que tenha aumentado em ganho nos últimos anos, em sua maioria, a produção brasileira é baseada em sistemas extensivos, apresentando baixa adesão tecnológica e terminação tardia das carcaças, o que gera impacto na sustentabilidade e rentabilidade do sistema e na qualidade do produto ofertado ao consumidor final (Maciel et al., 2021; Pashaei Kamali et al., 2016). Tal fato está relacionado à utilização de animais da raça Nelore, que naturalmente apresentam crescimento tardio, o que aliado à baixa aplicação de tecnologias, como suplementação, melhoramento genético, planejamento forrageiro e emprego de técnicas reprodutivas, contribui para a baixa produtividade (Lampert et al., 2020; Oliveira et al., 2021).

A raça Nelore, introduzida no Brasil no final do século XIX, destaca-se por sua rusticidade e adaptabilidade às condições tropicais (Ferraz e Felício, 2010). Suas características, como resistência a parasitas e eficiência no aproveitamento de pastagens de baixa qualidade, a tornam ideal para sistemas extensivos (Guerra et al., 2016; Oliveira et al., 2013). Contudo, para elevar a produtividade, é necessário otimizar fatores como eficiência alimentar, taxa de ganho de peso e índices

reprodutivos, o que exige uma compreensão detalhada da interação entre genética, manejo e nutrição (Lampert et al., 2020).

Entre as estratégias para aumentar a produtividade, destaca-se o confinamento, no qual, em geral, os animais são criados a pasto durante a maior parte da vida (cria e recria) e são mantidos em áreas restritas no período final (terminação), sendo alimentados com dietas de maior densidade energética e baixa inclusão de fibra, com o intuito de aumentar e acelerar a deposição de músculo e gordura, produzindo carcaças de maior qualidade em menor tempo, melhorando a eficiência do sistema como um todo (Agastin, et al., 2013; Klopatek, et al., 2021). Entretanto, devido às características específicas dos ruminantes como a necessidade de fibra para manutenção da fermentação ruminal e a sensibilidade ao pH baixo, essas dietas representam um desafio, podendo levar a distúrbios metabólicos (Nagaraja e Titgemeyer, 2007). Para mitigar esses efeitos, é necessário selecionar animais capazes de se adaptar a essas condições e otimizar seu metabolismo para maximizar a eficiência produtiva.

Entender como o metabolismo modifica a taxa de crescimento em sistemas de confinamento é fundamental para maximizar a eficiência de produção em diferentes escalas produtivas. Nesse contexto, a metabolômica surge como uma ferramenta molecular que possibilita a avaliação do metabolismo dos animais por meio da identificação e quantificação dos metabólitos presentes em diferentes tipos de amostras biológicas, como fluidos corporais, tecidos e excrementos (Goldansaz et al., 2017). Essa técnica tem sido utilizada para entender como o metabolismo dos animais pode ser modificado em diferentes condições, auxiliando no aumento da produção, na identificação de possíveis biomarcadores e na mitigação de doenças (Plaizier et al., 2008). Portanto, o objetivo desta revisão foi o de contextualizar a importância do desempenho produtivo em bovinos Nelore, identificar os principais fatores que influenciam as taxas de crescimento e explorar os processos metabólicos associados ao ganho de peso, destacando o papel da metabolômica como ferramenta inovadora na produção animal.

## **1.2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **1.2.1. Aspectos gerais sobre o metabolismo em ruminantes**

O metabolismo é definido como uma série de reações necessárias para extrair energia do ambiente e fornecê-la as células para possibilitar o crescimento e manutenção da vida (Judge e Dodd, 2020). Os diferentes ambientes aos quais os animais foram submetidos durante milênios modificaram a forma de funcionamento desse metabolismo, resultando em diferenças significativas em animais de distintas classes, famílias e espécies. Com a evolução, os organismos desenvolveram diversas características específicas para adquirir e aproveitar essa energia disponível ao seu redor, culminando em uma variedade de vias metabólicas (Seebacher et al., 2018).

Os ruminantes foram um dos grupos de animais que mais alteraram sua morfologia e metabolismo ao longo de sua evolução, possibilitando que ocupassem diferentes habitats ao redor do planeta e que conseguissem aproveitar plantas de forma mais eficiente que os demais animais herbívoros (Bao et al., 2019). Essa capacidade se deve principalmente ao desenvolvimento do aparato ruminal, uma das quatro câmaras em que seu estômago se subdividiu, responsável por uma significativa parcela da digestão dos alimentos por meio da fermentação. Com o desenvolvimento desse processo, o metabolismo foi alterado fazendo com que esses animais utilizassem os ácidos graxos de cadeia curta como fonte principal de energia, diferente de outros mamíferos que utilizam a glicose (Chen et al., 2019).

Um dos fatores mais importantes dessa evolução é a associação dos ruminantes com microrganismos que habitam principalmente o rúmen-retículo, sendo estes fundamentais nos processos metabólicos desses animais. Com essa simbiose, os ruminantes são capazes de digerir estruturas das quais sozinhos não seriam capazes, como a parede celular das plantas, composta principalmente de celulose. Essa característica é essencial para o metabolismo desses animais, pois é por meio desta fermentação que os ruminantes adquirem entre 70 e 80% da energia e nutrientes oriundas da sua digestão, que ocorre principalmente pela absorção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) de cadeia curta através da parede ruminal seguida por seu metabolismo no fígado e em outros tecidos (Van Soest, 1994).

Os principais AGCC produzidos durante o processo de fermentação microbiana no rúmen são acetato, propionato e butirato, sendo encontrados proporcionalmente nessa ordem. Cada AGCC desempenha papéis distintos no organismo, seguindo rotas metabólicas específicas. O acetato, o mais abundante dos três, é a principal fonte de energia para os ruminantes, sendo convertido em acetil-CoA, que entra no ciclo do ácido cítrico e gera ATP, a principal moeda energética do organismo. O propionato, por sua vez, é crucial na gliconeogênese desses animais, sendo convertido em ácido pirúvico e, posteriormente, em glicose. Já o butirato está principalmente associado à geração de energia direta para as papilas ruminais (Noziere et al. 2010). Ressalta-se ainda que durante a fermentação ruminal ocorre também a produção de gases, como o metano, que representa uma perda de energia que pode reduzir a eficiência do sistema (Matthews et al., 2018).

O metabolismo de proteínas em ruminantes acontece de forma mais complexa em relação a animais não ruminantes devido a interação com os microrganismos presentes no rúmen, como bactérias, protozoários e fungos (Liu et al., 2020). Nesses animais, parte da proteína ingerida escapa da degradação ruminal, chamada Proteína Não Degradada no Rúmen (PNDR), sofrendo hidrólise apenas no abomaso. Outra fração da proteína ingerida fica retida no rúmen e é degradada pelos microrganismos, denominada de Proteína Degradada no Rúmen (PDR), sendo incorporada diretamente na forma de peptídeos simples ou hidrolisadas completamente, até a forma de amônia e juntamente com outras fontes de Nitrogênio Não Proteico (NNP), serão utilizadas na formação de novas proteínas, conhecida como Proteína Microbiana (PM), que compõem os microrganismos (Bach et al., 2005).

Com a morte desses microrganismos, a PM será arrastada com porções que saem do rúmen e será hidrolisada no abomaso, junto com a PNDR, e absorvida na forma de peptídeos e aminoácidos no duodeno. Após a absorção, esses aminoácidos seguem diferentes rotas metabólicas, podendo ser convertidos em proteínas mais complexas ou distribuídos nos tecidos, onde podem ser utilizados na síntese de proteínas estruturais, hormônios e enzima (Hackmann e Firkins, 2015). Quando estão em excesso no organismo, esses aminoácidos, podem ser desaminados, liberando amônia e cadeias de carbono que serão catabolizados para geração de energia. A

amônia é tóxica ao organismo, podendo causar diversas disfunções, por isso ela é convertida em ureia, que pode ser reciclada na saliva ou excretada na urina (Patra, 2015).

O metabolismo de lipídeos é especialmente distinto em ruminantes devido à características intrínsecas dos microrganismos presentes no rúmen. Os lipídeos, principalmente os compostos de ácidos graxos insaturados (AGI), apresentam efeitos deletérios nos microrganismos, podendo causar a sua morte a depender do nível de inclusão na dieta. Essa toxicidade se deve ao fato dos AGI poderem se incorporar a membrana plasmática dos microrganismos, principalmente de bactérias fermentadoras de fibra, aumentando sua permeabilidade e causando danos a integridade da célula, além de ficarem aderidos as fibras, dificultando o acesso a fermentação (Maia et al., 2007). Por esse motivo, os microrganismos ruminais desenvolveram a biohidrogenação para lidar com esse tipo de situação, quebrando a ligações insaturadas e adicionando átomos de hidrogênio de forma consecutiva até que o AGI seja transformado em um ácido graxo saturado (Jenkins e Bridge, 2007)

Além da biohidrogenação, o metabolismo de lipídios em ruminantes inclui a lipólise, caracterizada pela quebra de lipídios complexos, resultando na liberação de ácidos graxos e glicerol. Após a chegada ao intestino, os ácidos graxos são emulsificados, reesterificados em triglicerídeos nos enterócitos e transportados para o fígado, onde serão distribuídos pelo organismo. Esses lipídios podem participar do metabolismo energético por meio da beta-oxidação nas mitocôndrias ou, quando em excesso, serem transportados para o tecido adiposo, onde serão armazenados como reserva de energia (Lourenço et al., 2010) em processo denominado lipogênese. A lipogênese é um processo metabólico essencial que consiste em uma série de reações destinadas a armazenar o excesso de energia na forma de triglicerídeos no tecido adiposo e na glândula mamária. Em ruminantes, o principal precursor dos ácidos graxos utilizados na lipogênese é o acetato, enquanto o propionato atua como precursor da glicose e do glicerol, integrando o metabolismo energético (Lalotitis et al., 2010).

Embora sejam frequentemente estudados separadamente, esses metabolismos estão conectados, compartilhando metabólitos e alternando entre diferentes vias metabólicas conforme as condições às quais o animal é submetido. O metabolismo dos ruminantes apresenta diversas particularidades que tornam seu funcionamento mais complexo em comparação ao de animais não ruminantes, especialmente devido à ação da microbiota ruminal e às adaptações necessárias para a utilização de fontes de energia provenientes da fermentação. Compreender essas especificidades é fundamental para elucidar como elas influenciam os índices produtivos, permitindo não apenas a manipulação da eficiência na produção, mas também a implementação de estratégias mais sustentáveis, que otimizem o desempenho animal sem comprometer a saúde e meio ambiente.

### **1.2.2. Efeitos do confinamento no metabolismo de bovinos**

Com o aumento do número de animais confinados no Brasil e no mundo, faz-se necessário entender como esse tipo de sistema intensivo pode alterar o metabolismo de bovinos, favorecendo o acúmulo de músculo e gordura em menor tempo (Andrade et al., 2020; Fincham et al., 2009). Apesar de possibilitar um maior controle do manejo e da alimentação dos animais, o confinamento apresenta desafios metabólicos relacionados ao impacto da dieta que podem afetar a saúde e o desempenho dos bovinos (McGee et al., 2022; Pinto e Millen, 2019). Para superar esses desafios, esses animais precisam adaptar o seu metabolismo a dietas com alta densidade energética e baixa quantidade de fibra, assegurando tanto o desempenho como a sustentabilidade do sistema (Pinto e Millen, 2019).

O principal componente do confinamento de bovinos de corte é a dieta de alta densidade energética, composta predominantemente de grãos e subprodutos da agroindústria, que apresenta grande influência no metabolismo energético desses animais (Wagner et al., 2014). Esse tipo de dieta favorece uma maior degradação de carboidratos de rápida fermentação, gerando aumento na produção de AGCC, especialmente de propionato, principal precursor da glicose e o AGCC de maior eficiência na gliconeogênese. Com a maior disponibilidade de glicose, o metabolismo energético pode atuar majoritariamente utilizando este substrato, diminuindo a

atividade de vias metabólicas relacionadas a utilização de aminoácidos e lipídios para geração de energia, aumentando assim a disponibilidade de aminoácidos livres para síntese proteica no músculo e deposição de gordura no tecido adiposo (Remesar e Alemany, 2020).

Em estudos comparando o desempenho e a qualidade de carne de novilhos Holandês e Simental finalizados a pasto ou em confinamento, Nuernberg et al. (2005) encontram ganho médio diário (GMD) superior, menor idade ao abate, e maior maciez da carne em animais oriundos de confinamento que em animais terminados a pasto. Esse efeito também se reflete no metaboloma desses animais, como demonstrado por Gómez et al. (2022) ao estudar bovinos da raça Nelore em diferentes sistemas de terminação. Esses autores encontraram uma maior atividade do metabolismo energético em animais oriundos de confinamento, principalmente de succinato e adenosina monofosfato, metabólitos associados a gliconeogênese e ao ciclo do ácido cítrico.

O aumento na produção de AGCCs pode ser superior ao que o epitélio ruminal consegue absorver, principalmente do lactato, o que pode causar um desequilíbrio ácido-base no rúmen, tornando o ambiente mais ácido. Além disso, a baixa inclusão de fibra diminui a mastigação merícica e o fluxo de ureia para o rúmen, o que contribui para a diminuição do pH e indução de quadros subclínicos de acidose ruminal, causando estresse metabólico e influenciando negativamente a produção (Hernández et al., 2014). Schneid et al. (2024), trabalhando com novilhos cruzados alimentados com dietas contendo baixo (49,1 % de amido; 10% de volumoso) ou alto amido (64,4% de amido; 3% de volumoso), reportaram uma diminuição nos valores de consumo de matéria seca, ganho de peso médio diário, peso de carcaça quente e maior número total e severidade de abscessos hepáticos em animais alimentados com dietas contendo alta quantidade de amido.

Além da alta quantidade de carboidratos não estruturais, as dietas de confinamento podem possuir teor proteico mais facilmente manipulável quando comparadas com alimentação baseada exclusivamente em gramíneas, alterando também o metabolismo proteico dos animais (Valizadeh et al., 2021). Essa maior

quantidade de proteínas, quando equilibradas em PDR e PNDR, é capaz de aumentar a digestibilidade dos nutrientes, a produção total de AGCCs e de proteína microbiana, fornecendo mais substrato para o crescimento de músculos (Putri et al., 2021). Entretanto, estudos demonstraram que valores muito altos de proteína na fase de terminação podem influenciar no desempenho e em características de carcaça dos animais, diminuindo o ganho diário, o peso de carcaça e a espessura de gordura subcutânea, além de aumentar a excreção de nitrogênio, impactando o meio ambiente e aumentando o custo de produção (Amaral, et al. 2018; Gleghorn et al., 2004; Menezes et al., 2016; Seoyoung et al., 2021).

Dietas com maior densidade energética impactam diretamente o metabolismo lipídico dos animais, estimulando vias metabólicas associadas à deposição de gordura, como a lipogênese e a lipólise. Esse excesso de energia disponível favorece o acúmulo de lipídios, podendo alterar o perfil de ácidos graxos na carne dos animais (Torrecilhas et al., 2023). Evans et al. (2024) analisaram dados ômicos de bovinos Angus terminados a pasto e em confinamento nos Estados Unidos, e encontraram que os animais terminados em confinamento apresentaram menor quantidade de ácidos graxos insaturados na carne devido ao maior metabolismo glicolítico que ocorreu nesses animais.

### **1.2.3. Taxa de crescimento em bovinos**

De forma geral, os animais utilizados no confinamento passam a maior parte de suas vidas em sistemas extensivos, sendo alimentados a pasto. Quando são inseridos no confinamento, precisam se adaptar a uma dieta com alta inclusão de grãos e baixa participação de fibra, o que se caracteriza como o principal desafio desse tipo de sistema. Por esse motivo, foram desenvolvidos diferentes protocolos de adaptação a essas dietas, sendo a substituição gradual de fibra por grãos a mais utilizada (Estevam et al., 2020). Entretanto, mesmo com o período de adaptação, como não foram selecionados especificamente para esse tipo de sistema, os animais que se adaptam melhor ao confinamento apresentam desempenho superior, resultando em animais com diferentes taxas de crescimento.

Caracterizado como um dos principais índices de controle na produção de bovinos de corte, a taxa de crescimento pode ser definida como a diferença no tamanho ou peso de um animal no início e no final de determinado período, sendo o ganho de peso médio diário o mais comumente utilizado. O crescimento ocorre de forma sigmoide, onde o indivíduo tem crescimento inicial mais lento, ainda na fase uterina, seguido por um crescimento exacerbado após o nascimento, que tende a desacelerar próximo a chegada da maturidade, onde o crescimento estagna. Nas fases iniciais de desenvolvimento, o crescimento se baseia principalmente no acúmulo de tecido muscular e ósseo, havendo acúmulo acentuado de gordura somente após a maturidade fisiológica, identificada pelo ponto que a massa muscular atinge seu ápice (Owens et al., 1993).

O crescimento dos bovinos ocorre de forma diferenciada entre as diferentes subespécies e raças, sendo algumas consideradas mais precoces e outras mais tardias, estando esta característica relacionada ao tempo necessário para atingir o peso à maturidade. Raças precoces alcançam a maturidade fisiológica mais rapidamente do que as raças tardias, com um melhor acabamento de gordura, porém tendem a apresentar um menor peso à maturidade. Isso ocorre porque essas raças passam menos tempo depositando músculo e iniciam mais cedo a deposição de gordura (Jenkins et al., 1991; Zimmermann et al., 2021). O impacto da precocidade da raça foi investigado por Freetly et al. (2011) ao avaliarem o efeito de diferentes raças paterna no crescimento de novilhas cruzadas. Os autores encontram novilhas filhas de touros de raças mais precoces, como a Hereford, chegavam a puberdade mais rápido e com menor peso a maturidade quando comparadas com novilhas oriundas de raças mais tardias, como a Brahma. O conhecimento dessas diferenças entre raças é fundamental para a definição de estratégias nutricionais e de manejo que maximizem o ganho de músculo e garantam um adequado acabamento de gordura, otimizando a eficiência produtiva em diferentes sistemas de criação.

A taxa de crescimento em bovinos é influenciada por diversos fatores, incluindo genética, nutrição, manejo e ambiente. No entanto, a genética e a nutrição são os principais determinantes do potencial de crescimento de um animal, especialmente em raças como o Nelore, amplamente utilizadas no Brasil. A genética determina o

potencial máximo de crescimento de um bovino, influenciando características como ganho médio diário (GMD), eficiência alimentar e composição corporal (Torres-Vázquez et al., 2018). Estudos realizados com bovinos Nelore e seu cruzamento com animais da raça Angus mostraram o efeito da genética na taxa de crescimento desses animais, onde animais oriundos de cruzamento apresentaram maior crescimento em relação ao Nelore puro, com GMD em torno de 30% maior (Amaral, et al. 2018; Oliveira, et al. 2021). A seleção genética tem sido estratégia eficiente para aumentar a taxa de crescimento do Nelore, em que os programas de melhoramento genético têm favorecido animais com maior GMD e melhor eficiência alimentar, reduzindo o tempo necessário para atingir o peso ideal de abate (Grion et al., 2014).

Embora a genética defina o potencial máximo de crescimento, a nutrição é o fator que permite ou limita a expressão desse potencial, podendo acelerá-lo e, desta forma, otimizar a eficiência produtiva. Amaral et al. (2018), ao avaliarem diferentes níveis de proteína na dieta de novilhos Nelore puros e cruzados com raças europeias, encontram maiores valores de GMD em animais cruzados que receberam dieta com maiores níveis de proteína. Os autores observaram que o aumento no teor de proteína da dieta de 10% para 12% resultou em um ganho adicional de mais de 200 g/dia nos novilhos Nelore. No entanto, não houve diferença significativa no desempenho dos animais cruzados, embora estes apresentassem valores médios superiores aos do Nelore. Esses resultados indicam que a resposta produtiva ao incremento nutricional é influenciada pela genética dos animais, mas que o desempenho pode ser otimizado com ajustes adequados no plano alimentar.

A taxa de crescimento é um dos principais fatores produtivos pois relaciona-se com o desenvolvimento do animal e, no caso de animais para produção de carne, com a quantidade e a qualidade do produto final. Esse dado zootécnico está relacionado com diversos outros índices produtivos, pois o crescimento reflete diretamente a resiliência do indivíduo em subjugar os desafios ao seu redor e continuar crescendo. A taxa de crescimento influencia diretamente outros índices produtivos como o peso ao abate e peso de carcaça, que será maior em animais com taxa de ganho acelerada; dado que esses resultados de performance são compostos pelo acúmulo do ganho ao longo da vida do animal (Castro Bulle et al., 2007).

Além disso, a taxa de crescimento compõe diretamente outros índices, como a eficiência alimentar, definida pela razão entre o ganho de peso e o consumo do animal, a qual expressa a capacidade do indivíduo em converter os alimentos em massa corporal. Estudos demonstraram que o ganho de peso tem uma alta correlação positiva com a eficiência alimentar e, neste sentido, foi utilizado durante muito tempo como forma mais simples de selecionar animais eficientes, uma vez que a pesagem dos animais já era uma prática comum dos criadores e que com a sua utilização não era necessário pesar o alimento fornecido e as sobras diariamente (Castro Bulle et al., 2007; Sutherland, 1965). A maior taxa de crescimento está associada a modificações na expressão de genes relacionados ao metabolismo energético e proteico, à resposta inflamatória e à saúde intestinal de animais mais eficientes, que conseguem ganhar mais peso ingerindo a mesma quantidade de alimento, aumentando sua eficiência alimentar (Foote, et al. 2017).

#### **1.2.4. Relação entre taxa de crescimento e o metabolismo**

A maior taxa de crescimento está associada a modificações na expressão de genes relacionados ao metabolismo energético e proteico, à resposta inflamatória e à saúde intestinal de animais mais eficientes, que conseguem ganhar mais peso ingerindo a mesma quantidade de alimento, aumentando sua eficiência alimentar (Foote, et al. 2017). O metabolismo de ruminantes é impactado principalmente pela digestão, que é influenciada pelas condições do trato gastrointestinal e pela população microbiana em suas diferentes porções. Animais divergentes em ganho aparentam ter uma diferença na microbiota, o que pode modificar seu padrão de fermentação e gerar diferentes substratos que farão parte de diversas vias metabólicas que, por sua vez, gerarão diferentes metabólitos.

O metaboloma é definido como o conjunto de metabólitos presentes no corpo de um indivíduo e sua composição é influenciada por diversos fatores, dentre eles a taxa de crescimento (Fienh, 2001; Imaz et al., 2022). Animais com taxa de crescimento mais acelerada, que ganham mais peso em menor tempo, apresentam modificações que os tornam mais eficientes, possibilitando o melhor aproveitamento dos recursos.

Esses animais têm expressão gênica diferenciada, resultando em um metabolismo modificado que dará suporte a um melhor desempenho produtivo (Imaz et al., 2022).

Myer et al. (2015), trabalhando com a microbiota ruminal de novilhos de origem europeia divergentes para ganho de peso e consumo de matéria seca, verificaram que animais com maior GMD apresentaram maior ocorrência de bactérias do filo *Firmicutes*, envolvidas principalmente no metabolismo energético, quando comparados a animais com menor GPMD, o que influenciou na eficiência alimentar desses animais. Em estudo realizado por Freetly et al. (2020) foi demonstrado as diferenças que ocorrem na microbiota de todo o trato gastrointestinal de novilhos Angus com alto e baixo GMD. Embora os autores não tenham encontrado diferenças significativas na população bacteriana ruminal, foi verificada uma grande variação na população bacteriana do ceco, sendo essa variação associada a animais com de alto GMD, principalmente de bactérias *Lachnospiracea* e *Ruminococcaceae*, que podem estar relacionadas a uma fermentação cecal mais completa e maior disponibilidade de ácido graxo de cadeia curta (Freetly et al. 2020).

A taxa de crescimento tem um impacto direto no metabolismo energético dos animais. Indivíduos de ganho acelerado requerem maiores quantidades de energia para o crescimento e a utilização dessa energia é feita de forma mais eficiente, aproveitando melhor as fontes disponíveis. O metabolismo desses animais é alterado para suprir essa demanda energética, tanto por meio das mudanças nos padrões de fermentação no trato gastrointestinal, como nas vias metabólicas de aproveitamento dos substratos, com vias mais bem reguladas para o aumento da eficiência de utilização. Pesquisas conduzidas por Gómez et al. (2022) demonstraram que a taxa de crescimento em bovinos aparentam ser o principal fator que influencia a eficiência do metabolismo energético, influenciando o perfil metabolômico dos animais. Ao analisarem o efeito da taxa de crescimento e do sistema de alimentação no metaboloma da carne de novilhos cruzados, os autores verificaram que animais com maiores GPMD obtiveram maiores concentrações de succinato, adenosina monofosfato, glicose e colina, metabólitos relacionados a produção de energia.

Corroborando com esses resultados, Imaz et al. (2022), trabalhando com diferentes fases de crescimento de bovinos a pasto, encontraram que o metabolismo de animais de crescimento rápido é caracterizado pela rápida geração de energia e absorção de aminoácidos, 3-hidroxiacetato e grupos acetil. Além disso, os mesmos autores notaram que períodos de maior crescimento é acompanhado pela alta disponibilidade de aminoácidos, glicose, sulfona de dimetila e e 3-hidroxiacetato, enquanto períodos de baixo crescimento exibem maiores concentrações de lipídios, colina e acetato, provavelmente devido a maior mobilização de reservas durante a fase de menor ganho.

### **1.2.5. Metabolômica como ferramenta na produção animal**

A metabolômica é uma abordagem que surgiu no final dos anos 90 como ferramenta para a análise do metaboloma de diferentes materiais biológicos, sendo utilizada em fluidos corporais, excrementos, músculo, biofilmes e células (Alseekh e Fernie, 2018). Sua realização se baseia nos princípios de identificação e quantificação dos metabólitos presentes na amostra utilizando principalmente três técnicas: ressonância magnética nuclear, cromatografia de gás e a espectrometria de massa (Segers et al. 2019). Em revisão sistemática apresentada por Goldansaz et al. (2017), os autores demonstraram a gama de possibilidades de uso da metabolômica em diferentes áreas da produção animal, relacionadas com saúde, nutrição, reprodução, produtos e fisiologia que utilizaram amostras de plasma e soro sanguíneo, urina, líquido ruminal, leite, carne, fezes, fígado, sêmen, entre outros materiais, para obter as informações necessárias.

O conjunto A investigação de metabólitos presentes em amostras biológicas pode ser analisada de duas maneiras: a metabolômica direcionada (*targeted*), que visa a quantificação precisa de um conjunto específico de metabólitos previamente identificados; e a não direcionada (*untargeted*), que busca identificar e quantificar o maior número possível de metabólitos, incluindo aqueles ainda não caracterizados, oferecendo uma visão abrangente do perfil metabólico. A geração de dados nessas abordagens envolve a extração de metabólitos das amostras biológicas, seguida da análise pelas de diferentes técnicas já mencionadas. A interpretação dos resultados

requer a integração desses dados com informações sobre vias metabólicas, permitindo a identificação de alterações metabólicas associadas a condições específicas (Fontenezi, 2016).

A metabolômica, embora seja uma ferramenta poderosa para estudar o metabolismo e as interações bioquímicas em organismos, enfrenta algumas limitações, tanto no que diz respeito à sua aplicação prática quanto às dificuldades técnicas. É dependente de tecnologias sofisticadas e de alto custo, como espectrometria de massas e cromatografia líquida, que podem restringir o seu acesso em contextos de menor orçamento. Além disso, segundo Goldansaz et al. (2017), um dos maiores desafios é a complexidade e a diversidade dos metabólitos presentes nas amostras biológicas, o que dificulta a identificação e quantificação precisa de todos os compostos, especialmente aqueles em concentrações muito baixas ou ainda não caracterizados. Além disso, a interpretação dos resultados de metabolômica requer um conhecimento aprofundado das vias metabólicas, que muitas vezes ainda são incompletas ou mal compreendidas.

Neste contexto, o uso integrado das ferramentas ômicas, como a genômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica, oferece uma compreensão holística dos processos biológicos que ocorrem como resultado da interação entre genética e ambiente, gerando informações mais precisas que poderão auxiliar no desenvolvimento de estratégias de melhoramento genético e na produção como um todo. A combinação dessas abordagens permite a identificação de biomarcadores robustos e fornece *insights* valiosos que poderão auxiliar no aprimoramento da eficiência produtiva e saúde dos animais (Chakraborty et al. 2022). Desta forma, a metabolômica surge como uma ferramenta promissora na produção animal, possibilitando uma abordagem eficiente na gestão da nutrição, na seleção genética e no monitoramento da saúde dos rebanhos. Seu uso contínuo e aprimorado tende a consolidar-se como um dos pilares da pecuária moderna, contribuindo para a otimização da produção e para a sustentabilidade do setor.

### 1.3. REFERENCIAS

Agastin, A., Navès, M., Farant, A., Godard, X., Bocage, B., Alexandre, G., Boval, M. (2013). Effects of feeding system and slaughter age on the growth and carcass characteristics of tropical-breed steers. **Journal of Animal Science**, 91(8), 3997-4006.

Alseekh, S., Fernie, A. R. (2018). Metabolomics 20 years on: what have we learned and what hurdles remain?. **The Plant Journal**, 94(6), 933-942.

Amaral, P. M., Mariz, L. D. S., Zanetti, D., Prados, L. F., Marcondes, M. I., Santos, S. A., Valadares Filho, S. C. (2018) Effect of dietary protein content on performance, feed efficiency and carcass traits of feedlot *Nellore* and *Angus* × *Nellore* cross cattle at different growth stages. **The Journal of Agricultural Science** 156(01):110–117.

Andrade, T. S. de, Albertini, T. Z., Barioni, L. G., de Medeiros, S. R., Millen, D. D., Dos Santos, A. C. R., Goulart, R. S., Lanna, D. P. D. (2020). Perception of consultants, feedlot owners, and packers regarding the optimal economic slaughter endpoint in feedlots: A national survey in Brazil (Part I). **Canadian Journal of Animal Science**. 100(4), 745–758.

Bach, A., Calsamiglia, S., Stern, M. D. (2005) Nitrogen Metabolism in the Rumen. **Journal of Dairy Science** 88: E9–E21.

Bao, W., Lei, C., Wen, W. (2019) Genomic insights into ruminant evolution: from past to future prospects. **Zoological Research** 40(6):476.

Castro Bulle, F. C. P., Paulino, P. V., Sanches, A. C., Sainz, R. D. (2007). Growth, carcass quality, and protein and energy metabolism in beef cattle with different growth potentials and residual feed intakes. **Journal of Animal Science**, 85(4), 928–936.

Chakraborty, D., Sharma, N., Kour, S., Sodhi, S. S., Gupta, M. K., Lee, S. J., Son, Y. O. (2022) Applications of omics technology for livestock selection and improvement. **Frontiers in Genetics** 13:774113.

Chen, L., Qiu, Q. et al. (2019) Large-scale ruminant genome sequencing provides insights into their evolution and distinct traits. **Science** 364(6446):eaav6202.

Costa, M. A., Silva, L. F. (2020) Eficiência produtiva em sistemas de criação de bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia** 49:e20200015.

Estevam, D. D., Pereira, I. C., Rigueiro, A. L. N., Perdigão, A., Da Costa, C. F., Rizzieri, R. A., Pereira, M. C. S., Martins, C. L., Millen, D. D., Arrigoni, M. D. B. (2020) Feedlot performance and rumen morphometrics of *Nellore* cattle adapted to high-concentrate diets over periods of 6, 9, 14 and 21 days. **Animal** 14(11):2298-2307.

Evans, N., Cloward, J., Ward, R. E., van Wietmarschen, H. A., van Eekeren, N., Kronberg, S. L., Provenza, F. D., Van Vliet, S. (2024) Pasture-finishing of cattle in

Western US rangelands improves markers of animal metabolic health and nutritional compounds in beef. **Scientific Reports** 14(1):20240.

Ferraz, J. B. S., Felício, P. E. (2010) Production systems—an example from Brazil. **Meat Science** 84(2):238-243.

Fiehn, Oliver (2001) Combining genomics, metabolome analysis, and biochemical modelling to understand metabolic networks. **Comparative and Functional Genomics** 2(3):155-168.

Fincham, J. R., Fontenot, J. P., Swecker, W. S., Herbein, J. H., Neel, J. P. S., Scaglia, G., Clapham, W. M., Notter, D. R. (2009). Fatty acid metabolism and deposition in subcutaneous adipose tissue of pasture-and feedlot-finished cattle. **Journal of animal science**, 87(10), 3259-3277.

Fontanesi, L. (2016) Metabolomics and livestock genomics: Insights into a phenotyping frontier and its applications in animal breeding. **Animal Frontiers** 6(1):73–79.

Freetly, H. C., Dickey, A., Lindholm-Perry, A. K., Thallman, R. M., Keele, J. W., Foote, A. P., Wells, J. E. (2020) Digestive tract microbiota of beef cattle that differed in feed efficiency. **Journal of Animal Science** 98(2).

Freetly, H. C., Kuehn, L. A., Cundiff, L. V. (2011) Growth curves of crossbred cows sired by Hereford, *Angus*, Belgian Blue, Brahman, Boran, and Tuli bulls, and the fraction of mature body weight and height at puberty. **Journal of Animal Science** 89(8):2373–2379.

Gleghorn, J. F., Elam, N. A., Galyean, M. L., Duff, G. C., Cole, N. A., Rivera, J. D. (2004) Effects of crude protein concentration and degradability on performance, carcass characteristics, and serum urea nitrogen concentrations in finishing beef steers. **Journal of Animal Science** 82(9):2705–2717.

Goldansaz, S. A., Guo, A. C., Sajed, T., Steele, M. A., Plastow, G. S., Wishart, D. S. (2017) Livestock metabolomics and the livestock metabolome: A systematic review. **PLOS ONE** 12(5):e0177675.

Gómez, J. F. M., Cônsolo, N. R. B., Antonelo, D. S., Beline, M., Gagaoua, M., Higuera-Padilla, A., Colnago, L. A., Gerrard, D. E., Silva, S. L. (2022) Impact of cattle feeding strategy on the beef metabolome. **Metabolites** 12(7):640.

Greenwood, P. L. (2021). An overview of beef production from pasture and feedlot globally, as demand for beef and the need for sustainable practices increase. **Animal**, 15, 100295.

Grion, A. L., Mercadante, M. E. Z., Cyrillo, J. N. S. G., Bonilha, S. F. M., Magnani, E., Branco, R. H. (2014) Selection for feed efficiency traits and correlated genetic responses in feed intake and weight gain of *Nellore* cattle. **Journal of Animal Science** 92(3):955-965.

Guerra, G. L., Mizubuti, I. Y., de Azambuja Ribeiro, E. L., Prado-Calixto, O. P., da Silva, L. D. D. F., Pereira, E. S., Massaro Junior, F. L., Guerra, A. L., Fernandes Júnior, F., Henz, É. L. (2016). Supplementation of beef cattle grazing *Brachiaria brizantha* during the dry and rainy seasons: performance and carcass ultrasound prediction. **Semina: Ciências Agrárias**, 37(5), 3277-3292.

Hackmann, T. J.; Firkins, J. L. (2015) Maximizing efficiency of rumen microbial protein production. **Frontiers in Microbiology** 6:465.

Hernández, J., Benedito, J. L., Abuelo, A., Castillo, C. (2014) Ruminal acidosis in feedlot: from aetiology to prevention. **The Scientific World Journal** 2014(1):702572.

Imaz, J. A., García, S., González, L. A. (2022) The metabolomics profile of growth rate in grazing beef cattle. **Scientific Reports** 12(1):2554.

Jenkins, T. G., Kaps, M., Cundiff, L. V., Ferrell, C. L. (1991) Evaluation of between-and within-breed variation in measures of weight-age relationships. **Journal of Animal Science** 69(8):3118-3128.

Jenkins, T. C.; Bridges Jr, W. C. (2007) Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. **European Journal of Lipid Science and Technology** 109(8):778-789.

Jeon, S., Lee, M., Seo, J., Kim, J. H., Kam, D. K., Seo, S. (2021) High-level dietary crude protein decreased backfat thickness and increased carcass yield score in finishing Hanwoo beef cattle (*Bos taurus coreanae*). **Journal of Animal Science and Technology** 63(5):1064.

Judge, A., Dodd, M. S. (2020) Metabolism. **Essays in Biochemistry** 64(4):607-647.

Klopatek, S. C., Marvinney, E., Duarte, T., Kendall, A., Yang, X., Oltjen, J. W. (2022). Grass-fed vs. grain-fed beef systems: performance, economic, and environmental trade-offs. **Journal of Animal Science**, 100(2), skab374.

Laliotis, G. P., Bizelis, I., Rogdakis, E. (2010) Comparative approach of the de novo fatty acid synthesis (lipogenesis) between ruminant and non-ruminant mammalian species: From biochemical level to the main regulatory lipogenic genes. **Current Genomics** 11(3):168–183.

Lampert, V. D. N., Canozzi, M. E. A., McManus, C. M., Dill, M. D., Oliveira, T. E. D., Mercio, T. Z., Texeira, O. S., Barcellos, J. O. J. (2019). Modelling beef cattle production systems from the Pampas in Brazil to assess intensification options. **Scientia Agricola**, 77, e20180263.

Liu, K., Zhang, Y., Zhongtang Yu, Xu, Q., Zheng, N., Zhao, S., Huang, G., Wang, J. (2020) Ruminal microbiota-host interaction and its effect on nutrient metabolism. **Animal Nutrition**.

Lourenço, M., Ramos-Morales, E., Wallace, R. J. (2010) The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. **Animal** 4(07):1008–1023.

Maciel, I. C., Schweihofner, J. P., Fenton, J. I., Hodbod, J., McKendree, M. G. S., Cassida, K., Rowntree, J. E. (2021). Influence of beef genotypes on animal performance, carcass traits, meat quality, and sensory characteristics in grazing or feedlot-finished steers. **Translational Animal Science**, 5(4), txab214.

Maia, M. R., Chaudhary, L. C., Figueres, L., Wallace, R. J. (2007) Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. **Antonie Van Leeuwenhoek** 91:303-314.

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2024). "**Relatório de Produção e Exportação de Carne Bovina.**"

Matthews, C., Crispie, F., Lewis, E., Reid, M., O'Toole, P. W., Cotter, P. D. (2018) The rumen microbiome: a crucial consideration when optimising milk and meat production and nitrogen utilisation efficiency. **Gut Microbes** 1–18.

McGee, M., Lenehan, C., Crosson, P., O'Riordan, E. G., Kelly, A. K., Moran, L., Moloney, A. P. (2022). Performance, meat quality, profitability, and greenhouse gas emissions of suckler bulls from pasture-based compared to an indoor high-concentrate weanling-to-beef finishing system. **Agricultural Systems**, 198, 103379.

Menezes, A. C. B., Valadares Filho, S. C., Costa e Silva, L. F., Pacheco, M. V. C., Pereira, J. M. V., Rotta, P. P., Zanetti, D., Detmann, E., Silva, F. A. S., Godoi, L. A., Rennó, L. N. (2016) Does a reduction in dietary crude protein content affect performance, nutrient requirements, nitrogen losses, and methane emissions in finishing Nellore bulls? **Agriculture, Ecosystems & Environment** 223:239–249.

Millen, D. D., Pacheco, R. D. L., Arrigoni, M. D. B., Galyean, M. L., Vasconcelos, J. T. (2011) A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of Animal Science** 89(10):3427-3439.

Myer, P. R., Smith, T. P. L., Wells, J. E., Kuehn, L. A., Freetly, H. C. (2015) Rumen microbiome from steers differing in feed efficiency. **PLOS ONE** 10(6):e0129174.

Nagaraja, T. G., Titgemeyer, E. C. (2007) Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. **Journal of Dairy Science** 90(Suppl):E17-E38.

Noziere, P., Glasser, F., Sauvant, D. (2010) In vivo production and molar percentages of volatile fatty acids in the rumen: a quantitative review by an empirical approach. **Animal** 5(3):403-414.

Nuernberg, K., Dannenberger, D., Nuernberg, G., Ender, K., Voigt, J., Scollan, N. D., Wood, J. D., Richardson, R. I. (2005) Effect of a grass-based and a concentrate feeding system on meat quality characteristics and fatty acid composition of longissimus muscle in different cattle breeds. **Livestock Production Science** 94(1-2):137–147.

Oliveira, M. C. S., Alencar, M. M., et al. (2013). Resistance of beef cattle of two genetic groups to ectoparasites and gastrointestinal nematodes in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 197(1-2), 168-175.

Oliveira, P. R. O., Oliveira, M. V. M., et al. (2021). Carcass and meat characteristics of feedlot finished nelore cattle and their crossbreeds in the Brazilian Pantanal. **Livestock Science**, 244, 104360.

Owens, F. N., Dubeski, P., Hanson, C. F. (1993) Factors that alter the growth and development of ruminants. **Journal of Animal Science** 71(11):3138-3150.

Pashaei Kamali, F., van der Linden, A., Meuwissen, M. P. M., Malafaia, G. C., Oude Lansink, A. G. J. M., Boer, I. J. M. (2016). Environmental and economic performance of beef farming systems with different feeding strategies in southern Brazil. **Agricultural Systems**, 146, 70–79.

Patra, A. K. (2015) Urea/ammonia metabolism in the rumen and toxicity in ruminants. In: **Rumen Microbiology: from evolution to revolution**, pp. 329-341.

Pinto, A. C. J., Millen, D. D. (2019). Nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists: the 2016 Brazilian survey. **Canadian Journal of Animal Science**. 99(2), 392-407.

Plaizier, J. C., Krause, D. O., Gzho, G. N., McBride, B. W. (2008) Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. **The Veterinary Journal** 176(1):21-31.

Putri, E. M., Zain, M., Warly, L., Hermon, H. (2021) Effects of rumen-degradable-to-undegradable protein ratio in ruminant diet on in vitro digestibility, rumen fermentation, and microbial protein synthesis. **Veterinary World** 14(3):640.

Remesar, X., Alemany, M. (2020) Dietary Energy Partition: The Central Role of Glucose. **International Journal of Molecular Sciences** 21(20):7729.

Schneid, K. N., Young, J. D., Lawrence, T. E., Richeson, J. T., Samuelson, K. L. (2024) Effects of dietary composition and feeding management regimen on liver abscess prevalence, growth performance, and carcass outcomes of feedlot steers. **Applied Animal Science** 40(3):347-357.

Seebacher, F. (2018) The evolution of metabolic regulation in animals. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology** 224:195–203.

Segers, K., Declerck, S., Mangelings, D., Heyden, Y. V., Eeckhaut, A. V. (2019) Analytical techniques for metabolomic studies: a review. **Bioanalysis** 11(24):2297–2318.

Sutherland, T. M. (1965) The Correlation between Feed Efficiency and Rate of Gain, a Ratio and Its Denominator. **Biometrics** 21(3):739.

Torrecilhas, J. A., Pereira, G. L., et al. (2023) Changes in the Lipid Metabolism of the Longissimus thoracis Muscle in Bulls when using Different Feeding Strategies during the Growing and Finishing Phases. **Metabolites** 13(10):1042.

Torres-Vázquez, J. A., van der Werf, J. H. J., Clark, S. A. (2018) Genetic and phenotypic associations of feed efficiency with growth and carcass traits in Australian Angus cattle. **Journal of Animal Science**.

Valizadeh, A., Kazemi-Bonchenari, M., Khodaei-Motlagh, M., Moradi, M. H., Salem, A. Z. M. (2021) Effects of different rumen undegradable to rumen degradable protein ratios on performance, ruminal fermentation, urinary purine derivatives, and carcass characteristics of growing lambs fed a high wheat straw-based diet. **Small Ruminant Research** 197:106330.

Van Soest, P. J. (1994) Nutritional ecology of the ruminant. **Cornell University Press**.

Wagner, J. J., Archibeque, S. L., Feuz, D. M. (2014) The Modern Feedlot for Finishing Cattle. **Annual Review of Animal Biosciences** 2(1):535–554.

Zimmermann, M. J., Kuehn, L. A., Spangler, M. L., Thallman, R. M., Snelling, W. M., Lewis, R. M. (2021) Breed and heterotic effects for mature weight in beef cattle. **Journal of Animal Science** 99(8):skab209.

## CAPÍTULO 2 - METABOLÔMICA DO SANGUE REVELA ALTERAÇÕES NO METABOLISMO ENERGÉTICO DE BOVINOS NELORE COM DIFERENTES TAXAS DE CRESCIMENTO

**RESUMO:** Objetivou-se identificar e quantificar metabólitos plasmáticos em bovinos de corte com diferentes taxas de crescimento durante a terminação em confinamento. Foram utilizados 120 bovinos Nelore (*Bos indicus*), machos não castrados, com peso médio inicial de  $387 \pm 14$  kg e com  $24 \pm 2$  meses de idade. Os animais foram confinados por 115 dias, recebendo dieta total de terminação composta por milho grão moído (51,0%), grãos secos de destilaria (17,7%), polpa cítrica (15,9%), bagaço de cana (12,0%) e núcleo (3,4%). Ao final da primeira etapa da adaptação, foram escolhidos aleatoriamente 40 animais para coleta de sangue. Ao final do período experimental, do *subset* de 40 bovinos, foram selecionados 24 animais e divididos em dois grupos experimentais de: alta (HP =12) e baixa (LP=12) taxa de crescimento com base no ganho de peso médio diário (GMD). O sangue coletado utilizado para extração e quantificação dos metabólitos por meio de ressonância magnética nuclear (H-NMR). Dados de área de olho de lombo (AOL), espessura de gordura subcutânea (EGS), peso de carcaça quente (PCQ) e rendimento de carcaça (RC) foram obtidos via ultrassom no final da terminação. O desempenho dos animais foi influenciado pela taxa de crescimento, sendo observado nos animais HP maiores eficiência alimentar, PCQ e EGS ( $P < 0,05$ ). Foram identificados 47 metabólitos no soro sanguíneo desses animais. Bovinos do grupo HP apresentaram maior concentração de treonina, glicolato, histidina e creatinina ( $P < 0,05$ ), enquanto o grupo LP apresentou maior concentração de fenilamina, succinato, acetato, asparagina e 2-hidroxisobutirato ( $P < 0,05$ ). Dentre as vias enriquecidas, destacam-se cadeia transportadora de elétrons mitocondrial ( $P = 0,06$ ), degradação do etanol ( $P = 0,08$ ) e oxidação da treonina e 2-oxobutanoato ( $P = 0,09$ ). Os resultados encontrados indicaram maior atividade no metabolismo energético em animais HP, apresentando uma maior diversificação dos substratos para geração de energia. Animais LP possivelmente apresentam uma ineficiência na cadeia transportadora de elétrons, diminuindo sua eficiência de utilização de energia e impactando o desempenho.

**Palavras-chave:** Crescimento, desempenho, ganho médio diário, ressonância magnética nuclear, vias metabólicas

## ABSTRACT

The objective of this study was to identify and quantify plasma metabolites in feedlot-finished beef cattle with divergent growth rates. A total of 120 non-castrated Nellore (*Bos indicus*) bulls were used, with an initial average body weight of  $387 \pm 14$  kg and an average age of  $24 \pm 2$  months. The animals were housed in a feedlot for 115 days and received a finishing total mixed ration composed of ground corn grain (51.0%), dried distillers grains (17.7%), citrus pulp (15.9%), sugarcane bagasse (12.0%), and a mineral-vitamin premix (3.4%). At the end of the first step of adaptation, 40 animals were randomly selected for blood sampling. At the end of the experimental period, from this subset of 40 animals, 24 were selected and divided into two experimental groups: high (HP = 12) and low (LP = 12) growth rate, based on average daily gain (ADG). Blood samples were used for metabolite extraction and quantification by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy ( $^1\text{H-NMR}$ ). Data on longissimus muscle area (LMA), backfat thickness (BFT), hot carcass weight (HCW), and dressing percentage (DP) were obtained via ultrasound at the end of the finishing period. Animal performance was influenced by growth rate, with HP animals showing greater feed efficiency, HCW, and BFT ( $P < 0.05$ ). A total of 47 serum metabolites were identified. HP animals presented higher concentrations of threonine, glycolate, histidine, and creatinine ( $P < 0.05$ ), while the LP group showed higher concentrations of phenylalanine, succinate, acetate, asparagine, and 2-hydroxyisobutyrate ( $P < 0.05$ ). Among the enriched metabolic pathways, the mitochondrial electron transport chain ( $P = 0.06$ ), ethanol degradation ( $P = 0.08$ ), and threonine and 2-oxobutanoate degradation ( $P = 0.09$ ) were noteworthy. The findings indicate higher activity in energy metabolism in HP animals, with greater substrate diversity for energy production. Conversely, LP animals may present inefficiencies in the electron transport chain, reducing their energy utilization efficiency and negatively impacting performance.

**Keywords:** Average daily gain, growth, metabolic pathways, nuclear magnetic resonance, performance

## 2.1. INTRODUÇÃO

Com o aumento da demanda mundial de alimentos, surge a necessidade de implementar técnicas que possibilitem o incremento da produção de carne sem expansão significativa de áreas produtivas (OECD-FAO, 2018). O confinamento de bovinos vem se tornando uma estratégia cada vez mais utilizada para esse propósito, sendo necessário entender a fundo seu impacto no metabolismo e na performance dos animais (Greenwood, 2021). A utilização desse sistema de produção, apesar de favorecer grande ganhos produtivos, é caracterizado por desafios metabólicos, principalmente em raças adaptadas ao clima tropical, como o Nelore (Wagner et al., 2014). A mudança do tipo de alimentação é o fator de maior influência no desempenho desses animais, que devem se adaptar e superar essas condições para conseguir exprimir resultados adequados a fim de elevar a produtividade (Estevam et al. 2020).

Além dos fatores ambientais, o desempenho dos bovinos é influenciado por diferenças individuais no metabolismo, o que afeta a taxa de crescimento desses animais, impactando diretamente na economia e sustentabilidade de sistemas intensivos de produção (Capper, 2011; Imaz et al. 2022). O ganho médio diário (GMD) é um dos principais indicadores para acompanhar o crescimento de bovinos, sendo uma das principais ferramentas na tomada de decisões estratégicas na produção de animal (Cheng et al., 2022; Tedeschi et al., 2004). Diferenças em relação à esta característica estão associadas a divergências na eficiência da utilização dos nutrientes e na regulação das vias metabólicas entre os indivíduos de uma mesma raça, resultando em animais com características e composições corporais diferentes (Foote et al., 2017).

Para entender melhor a razão dessas diferenças, é necessário compreender como o metabolismo é modificado em animais que apresentam desempenho superior, o que possibilita identificar fatores associados ao crescimento e eficiência alimentar. Em estudos realizados por Artegoitia et al (2022) e Ogunade et al (2021) utilizando novilhos cruzados *Bos taurus* × *Bos indicus* com diferentes GMD, animais com maior GMD tiveram seu metabolismo modificado, alterando o funcionamento de vias relacionadas ao metabolismo energético, principalmente da beta-oxidação, aumentando a capacidade de mobilização e oxidação de ácidos graxos, disponibilizando maior quantidade de energia para o crescimento. Entretanto, é possível encontrar divergência na literatura com relação ao efeito da taxa de crescimento no metabolismo, como apontado por Imaz et al. (2022) que,

ao estudarem o metaboloma de novilhos cruzados de Angus, identificaram que animais com baixas taxas de crescimento apresentavam maior atividade de vias relacionadas ao metabolismo oxidativo, enquanto animais com maiores taxas indicavam maior atividade de vias do metabolismo glicolíticos e de proteínas.

Interações entre taxa de crescimento e perfil metabólico já foram descritas anteriormente em bovinos de corte (Artegoitia et al. 2022; Gómez et al., 2022). No entanto, a maioria dos estudos descreveu avaliações realizadas ao final do período de terminação, sem considerar o impacto inicial do metabolismo sobre o desempenho futuro (Artegoitia et al. 2017; Artegoitia et al., 2022; Gómez et al., 2022; Imaz et al., 2022). O presente estudo amplia essa abordagem ao investigar a relação entre perfil metabólico no início do confinamento e a taxa de crescimento dos animais ao longo período de terminação. Essa estratégia é essencial pois identificar padrões metabólicos precoces associados ao desempenho posterior pode permitir um manejo nutricional mais preciso, possibilitando intervenções estratégicas para otimizar o ganho de peso dos bovinos.

Estudos realizados nos últimos anos demonstraram o como a metabolômica pode ser utilizada para visualizar o efeito das condições de produção sobre o metaboloma de bovinos de corte (Le e Park, 2022; Novais et al., 2019; Ramos et al., 2025). Essa tecnologia possibilita acessar o perfil metabólico dos animais por meio de tecidos ou fluidos corporais, permitindo a identificação e quantificação de metabolitos associados a importantes vias metabólicas, fornecendo base para entender a produção e assim melhorar a eficiência produtiva (Goldansaz et al., 2017). Entretanto, ainda existem lacunas no entendimento das alterações metabólicas em bovinos Nelore, principalmente com relação ao efeito da taxa de crescimento no metaboloma desses animais. Objetivou-se avaliar e identificar alterações no perfil metabólico do sangue no início do confinamento de bovinos Nelore com diferente taxa de crescimento (GMD) ao longo do período de terminação.

## **2.2. MATERIAL E MÉTODOS**

Todos os procedimentos com animais e amostras biológicas utilizados na presente pesquisa foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ UNESP Botucatu (Protocolo n° 0585/2023).

### 2.2.1. Localização, animais e tratamentos

O estudo foi realizado no Confinamento Experimental de Bovinos de Corte, sob responsabilidade do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ UNESP Botucatu. Foram utilizados 120 bovinos Nelore, machos não castrados, com peso médio inicial de  $387 \pm 14$  kg e  $24 \pm 2$  meses de idade. Os animais foram alojados em um galpão coberto com baias coletivas em concreto de 30 m<sup>2</sup>, com cinco animais por baia. Os animais foram adquiridos de uma fazenda comercial da região e tratados contra endo e ectoparasitas ainda no local de origem. Antes do início do experimento, passaram por um período de aclimação ao confinamento de sete dias, durante o qual receberam silagem para recuperação do estresse do transporte.

**Tabela 1.** Componentes e composição das dietas utilizadas durante o experimento

	Adaptação				Terminação
	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3	Etapa 4	
<i>Dias em alimentação</i>	21	4	4	4	82
<i>Componentes dieta (%)</i>					
Silagem de milho	24,97	-	-	-	-
Bagaço de cana	15,6	23,54	18,52	13,38	12,00
Milho grão moído	18,31	28,40	38,70	50,74	51,07
Polpa cítrica	12,30	20,01	17,35	13,06	15,91
DDG	25,43	25,27	22,41	19,43	17,63
Núcleo	3,39	2,78	3,02	3,39	3,39
<i>Composição da dieta (%)</i>					
Matéria seca	68,69	67,00	67,00	67,00	67,00
Cinzas	6,92	6,22	5,98	5,81	5,79
Proteína bruta	14,50	14,30	14,00	13,75	13,50
Extrato etéreo	4,28	4,30	4,30	4,30	4,29
Fibra em detergente neutro	36,31	33,97	29,65	25,20	21,89
Fibra em detergente ácido	23,48	17,75	15,06	12,28	10,50

Após esse período, os bovinos foram pesados e iniciaram a adaptação gradual à dieta de terminação, seguindo um protocolo em quatro etapas. A primeira etapa teve duração de 21 dias, durante os quais os animais receberam uma dieta com alta proporção de volumoso. Nas etapas seguintes, a proporção de concentrado foi gradualmente aumentada, com mudanças na dieta a cada quatro dias. Ao final da primeira etapa, os animais foram novamente pesados e foi realizada a coleta de sangue. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia, 09:00 e 16:00 h. A composição estimada e a formulação das dietas foram realizadas utilizando o software MAX<sup>tm</sup> System for Beef (Cargill Incorporated, Wayzata, Minnesota, Estados Unidos; Tabela 1). Ao final do período experimental, os animais foram ranqueados em dois tratamentos: alto (HP =12) e baixo (LP=12) desempenho com base no ganho médio diário (GMD) como critério de seleção.

### **2.2.2. Amostras de sangue e desempenho**

Diariamente, a quantidade de matéria seca (MS) ofertada e as sobras por baía foram registradas para estimar o consumo de matéria seca (CMS). Ao final da primeira etapa da adaptação (d21), os animais foram submetidos à coleta de sangue da veia coccígea, utilizando tubos de coleta a vácuo (Vacutube, Biocon Diagnostics, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) contendo coagulantes. O sangue foi rapidamente centrifugado (2000 g por 30 minutos), e o soro obtido foi armazenado a -80 °C em tubos de polipropileno (Eppendorf safe-lock, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) e posteriormente enviado para realização da análise de metabólômica por meio da técnica de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (H-NMR). Ao final do período de terminação, os animais foram novamente pesados (PV), submetidos à ultrassonografia (Esaote Pie Medical, Pie Medical Equipment B.V., Maastricht, Limburg, Países Baixos) utilizando uma probe de 3,5 MHz e o programa Echo Image Viewer 1.0 (Pie Medical Equipment B.V., Maastricht, Limburg, Países Baixos) e enviados a um frigorífico comercial da região.

Os dados de desempenho dos animais foram calculados com base nas pesagens e do intervalo em dias entre as pesagens de acordo com as seguintes fórmulas:

Ganho médio diário (GMD)

$$GMD = \frac{\text{Peso vivo inicial} - \text{Peso vivo final}}{\text{Dias entre as duas pesagens}}$$

Estimativa do consumo de matéria seca (CMS)

$$CMS = \frac{\frac{\text{Média MS ofertada} - \text{Média MS sobras}}{\text{dias em cocho}}}{\text{número de animais por baía}}$$

Eficiência alimentar (EA) foi obtida através da razão entre GMD e a estimativa de CMS.

$$EA = \frac{\text{Ganho médio diário}}{\text{Consumo de matéria seca}}$$

Os dados das características de carcaça avaliadas foram: peso de carcaça quente (PCQ), determinado pela pesagem das carcaças imediatamente após o abate; área de olho de lombo (AOL) e espessura de gordura subcutânea (EGS), estimadas por meio de imagens ultrassonográficas do músculo *Longissimus thoracis* entre a 12<sup>a</sup> e 13<sup>a</sup> costela, e o rendimento de carcaça (RC), calculado pela seguinte fórmula:

$$RC = \frac{\text{Peso de carça quente}}{\text{Peso vivo final}} \times 100$$

### 2.2.3. Preparação das amostras e obtenção dos espectros de NMR

Para a extração dos metabólitos, as amostras de soro foram descongeladas à temperatura ambiente, e 500 µl foram centrifugados em filtros de 3 kDa a 14.000 g por 30 minutos a 4 °C. Posteriormente, 300 µl do material filtrado foram liofilizados utilizando uma centrífuga de evaporação a vácuo (UVS800DA, THERMO Savant, Sunnyvale, CA, Estados Unidos) e enviados para análise por H-NMR na EMBRAPA Instrumentação, localizada em São Carlos, SP, Brasil. Os resíduos liofilizados foram solubilizados em 550

$\mu\text{L}$  de tampão fosfato (PBS à base de  $\text{D}_2\text{O}$ ; 0,1 M;  $\text{pD} = 7,4$ ) contendo 0,5 mM de ácido 3-(Trimetilsilil)-1-propanossulfônico- $\text{d}_6$  (DSS- $\text{d}_6$ ; Cambridge Isotopes, Leicestershire, Reino Unido), utilizado como padrão interno de concentração conhecida para quantificação dos metabólitos. Em seguida, a solução de cada amostra foi transferida para um tubo padrão de NMR de 5 mm para as medições.

A leitura das amostras foi realizada em um espectrômetro Bruker Avance III de 14,1 T (Bruker Corporation, Karlsruhe, Baden-Württemberg, Alemanha), equipado com uma sonda Broadband Observe (BBO) de 5 mm com ATMA® (Automatic Tuning Matching Adjustment), um gradiente de campo z, unidade de temperatura variável BCU-I, gerador de gradiente de campo e um trocador automático de amostras Sample-Xpress™. Espectros padrão de  $^1\text{H}$  foram obtidos a 298,15 K utilizando a sequência de pulso NOESY-1D (denominada noesypr1d no software TopSpin Bruker), com supressão do sinal da água por irradiação a 2821,88 Hz (O1). Os parâmetros de aquisição foram os seguintes: número de varreduras (ns) de 256, largura espectral (sw) de 12019 Hz (20,0276 ppm), pulso de  $90^\circ$  (P1) de 14,85  $\mu\text{s}$ , tempo de aquisição (aq) de 4,50 s, tempo de relaxamento (d1) de 4s, pontos de dados (TD) de 108170 (106 K), tempo de mistura (d8) de 5 ms e varreduras fictícias (ds) de 4.

Os espectros de  $^1\text{H}$  foram processados com um alargamento de linha de 0,3 Hz utilizando o software TopSpin™ 3.6.1 (Bruker Biospin, Ettlingen, Baden-Württemberg, Alemanha). As correções de fase e linha de base foram realizadas manualmente usando o Chenomix NMR Suite 8.4 (Chenomix Inc, Edmonton, Alberta, Canadá). Os metabólitos foram identificados manualmente nos espectros de 1D  $^1\text{H}$  NMR utilizando a biblioteca de compostos integrada na ferramenta Chenomix Profiler. As tabelas de concentração de metabólitos resultantes (47 metabólitos  $\times$  24 amostras) foram exportadas para Excel, onde os identificadores das amostras foram adicionados.

#### **2.2.4. Bioinformática e análises estatísticas**

Os dados de desempenho produtivo e características de carcaça foram analisados utilizando software SAS (Version 9.4, SAS Institute, Cary, Carolina do Norte, Estados Unidos). A normalidade dos resíduos foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk, e

os valores discrepantes foram removidos utilizando o procedimento UNIVARIATE. A homogeneidade das variâncias foi avaliada pelo teste de Box-Cox. Os dados que não apresentaram distribuição normal foram transformados por meio do procedimento PROC RANK (SAS 9.4). A análise estatística foi realizada em um delineamento em blocos inteiramente casualizados, utilizando o procedimento PROC MIXED, em que os animais foram considerados a unidade experimental, os tratamentos foram incluídos como efeitos fixos, enquanto bloco e os animais foram considerados efeitos aleatórios. O modelo foi definido como:

$$Y_{ijt} = \mu + B_i + A_j + P_t + e_{ijt}$$

onde  $Y_{ijt}$  representa a variável dependente,  $\mu$  é a média geral,  $B_i$  corresponde ao efeito aleatório do bloco,  $A_j$  ao efeito aleatório da unidade experimental,  $P_t$  ao efeito fixo do tratamento e  $e_{ijt}$  ao erro experimental. Os resultados foram reportados como médias dos mínimos quadrados (LSMEANS statement). O nível de significância adotado foi de  $P \leq 0,05$ .

Os dados metabolômicos foram analisados utilizando o software MetaboAnalyst 6.0 (<http://www.metaboanalyst.ca/>). Os dados de concentração de metabólitos foram carregados na plataforma, transformadas em log e escaladas pelo método Pareto antes das análises. Para explorar os dados, foram realizadas análises supervisionadas de Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) com validação cruzada pelo método LOOCV, utilizando a acurácia como medida de desempenho, conforme descrito por Imaz et al. (2022). A análise de importância da variável na projeção (VIP) foi utilizada para ranquear os metabólitos de acordo com sua relevância na discriminação entre os grupos. Metabólitos com valores VIP superiores a 1,0 foram considerados como os que segregam melhor os grupos. Os dados metabolômicos passaram por processamento de bioinformática, incluindo análises de enriquecimento de vias metabólicas (MSEA), utilizando os conjuntos de dados de metabólitos para cada grupo, conforme descrito por Xia e Wishart (2010). Os nomes dos compostos foram padronizados de acordo com o ID KEGG, e os algoritmos aplicados incluíram o teste global e a centralidade relativa de intermediação, com a biblioteca *Bos taurus* selecionada para as análises.

## 2.3. RESULTS

### 2.3.1. Desempenho

Não foram encontradas diferenças ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos no CMS, em quilogramas por dia ou com base no peso vivo, na AOL e no RC. Entretanto, animais HP apresentaram diferenças ( $P < 0,05$ ) para os dados PV<sub>i</sub> e PV<sub>f</sub>, GMD, EA, EGS e PCQ quando comparados aos animais LP, obtendo maiores valores em todas essas características, com exceção da EA, que foi inferior no grupo HP (Tabela 2).

**Tabela 2.** Desempenho e características de carcaça de bovinos nelore de alta e baixa taxa de crescimento durante a fase de terminação<sup>1</sup>

	Tratamento		SEM	P-valor
	HP	LP		
PV <sub>f</sub> , kg	602,17	540,00	4,30	< 0,01
GMD, kg	1,79	1,36	0,03	< 0,01
CMS, kg	10,16	9,75	0,15	0,07
CMS, %	1,96	2,05	0,03	0,07
EA	0,18	0,14	0,01	< 0,01
PCQ, kg	332,25	303,08	2,87	< 0,01
RC, %	55,17	56,15	0,36	0,07
AOL, cm <sup>2</sup>	73,93	71,82	2,24	0,51
EGS, mm	4,48	3,63	0,29	0,05

<sup>1</sup> HP: Alto ganho; LP: Baixo ganho; SEM: Erro padrão da média; PV; Peso vivo final; GMD: Ganho médio diário; CMS: Consumo de matéria seca; EA: Eficiência alimentar; PCQ: Peso de carcaça quente; RC: Rendimento de carcaça; AOL: Área de olho de lombo; EGS: Espessura de gordura subcutânea

### 2.3.2. Metabolômica

Foram identificados 47 metabolitos no soro do sangue dos animais através da técnica <sup>1</sup>H-NMR, sendo eles amino ácidos essenciais e não essenciais, açúcares, peptídeos, vitaminas, derivados de amino ácidos, ácidos orgânicos, antioxidantes celulares, dentre outros compostos (Tabela 3).

**Tabela 3.** Análise descritiva das concentrações dos metabólitos (mM)

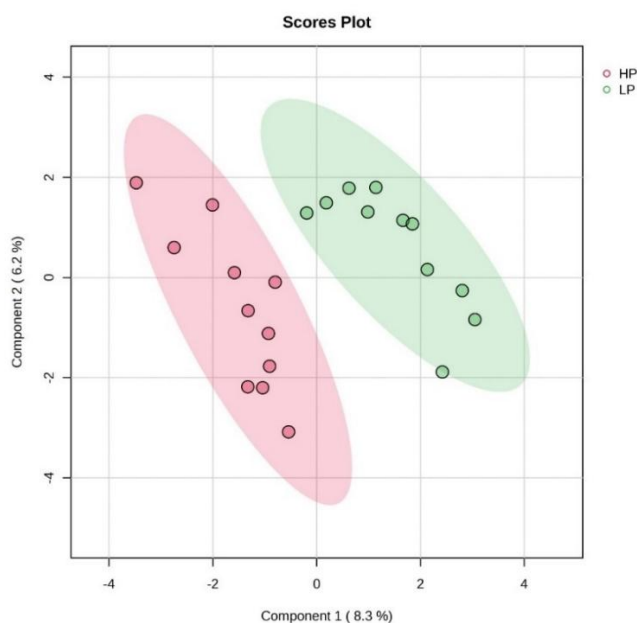
Metabólito	Média	DP <sup>1</sup>	Mínimo	Máximo
1,3-Dimethylurate	0,003	0,002	0,002	0,008
2-Hydroxyisobutyrate	0,005	0,002	0,002	0,009

3-Hydroxybutyrate	0,123	0,041	0,058	0,232
3-Hydroxyisovalerate	0,031	0,009	0,013	0,048
3-Phenylpropionate	0,006	0,001	0,003	0,009
4-Aminobutyrate	0,032	0,006	0,020	0,042
Acetate	0,183	0,088	0,076	0,447
Alanine	0,219	0,044	0,155	0,342
Allantoin	0,038	0,020	0,018	0,104
Asparagine	0,023	0,004	0,012	0,029
Benzoate	0,006	0,001	0,003	0,008
Betaine	0,059	0,023	0,025	0,117
Butyrate	0,008	0,003	0,004	0,013
Choline	0,010	0,003	0,005	0,017
Citrate	0,204	0,047	0,150	0,324
Creatine	0,097	0,038	0,037	0,196
Creatine phosphate	0,069	0,011	0,056	0,107
Creatinine	0,052	0,012	0,034	0,084
Dimethyl sulfone	0,012	0,008	0,004	0,030
Dimethylamine	0,003	0,001	0,001	0,007
Ethylene glycol	0,068	0,024	0,027	0,124
Formate	0,023	0,007	0,016	0,046
Galactarate	0,002	0,001	0,001	0,004
Glucose	3,393	0,946	2,103	5,657
Glutamate	0,026	0,005	0,016	0,039
Glutamine	0,146	0,036	0,065	0,216
Glycerol	0,136	0,043	0,077	0,249
Glycine	0,292	0,061	0,206	0,413
Glycolate	0,036	0,011	0,021	0,071
Hippurate	0,013	0,004	0,007	0,022
Histidine	0,026	0,006	0,017	0,040
Isobutyrate	0,011	0,003	0,004	0,017
Isoleucine	0,056	0,011	0,042	0,095
Lactate	5,716	3,476	2,062	16,777
Leucine	0,096	0,018	0,068	0,149
Mannose	0,041	0,006	0,028	0,052
Methanol	0,004	0,001	0,001	0,007
Methionine	0,014	0,003	0,008	0,021
Methylmalonate	0,026	0,016	0,008	0,073
Ornithine	0,022	0,005	0,013	0,036
Phenylalanine	0,022	0,003	0,015	0,028
Proline	0,048	0,008	0,033	0,067
Pyruvate	0,005	0,002	0,003	0,010
Succinate	0,004	0,003	0,002	0,018
Threonine	0,031	0,011	0,016	0,050
Tyrosine	0,054	0,011	0,036	0,074

Valine	0,154	0,031	0,107	0,246
--------	-------	-------	-------	-------

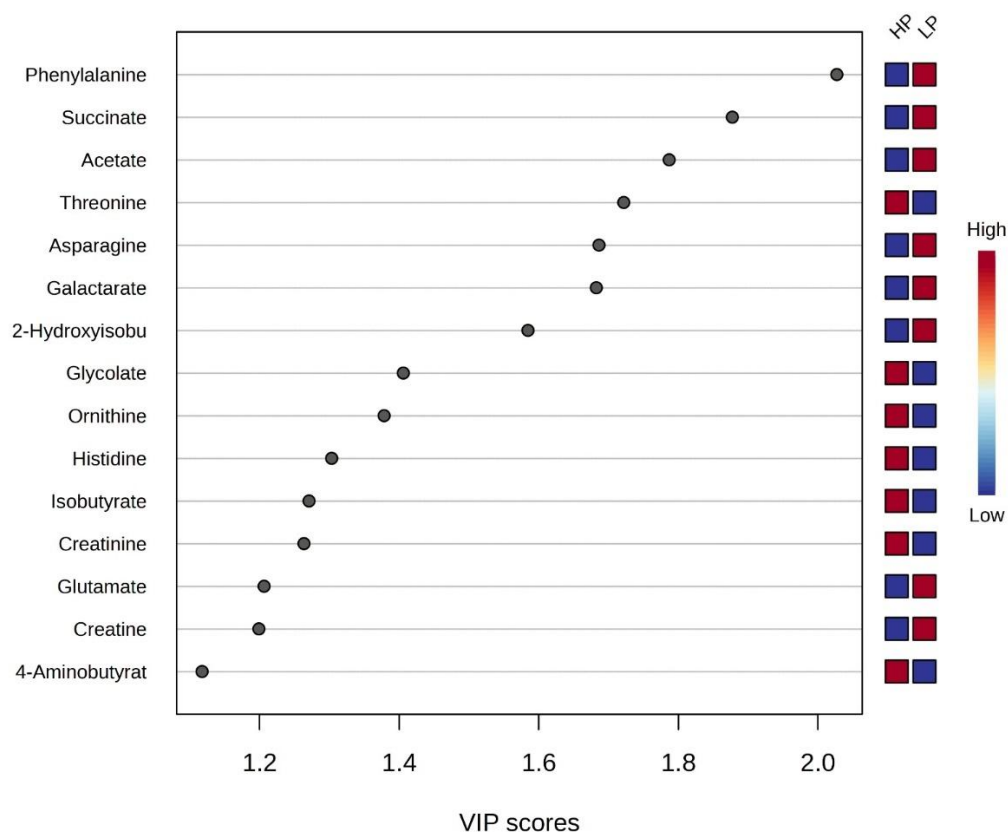
<sup>1</sup> DP: Desvio padrão

A PLS-DA foi utilizada para visualizar a separação entre os grupos analisados. Apesar da variação explicada pelos componentes 1 e 2 ser relativamente baixa (variância acumulada de 14,5%), a análise sugere diferenças entre os grupos experimentais (HP e LP), o que permite a segregação desses grupos, evidenciado pela ausência de sobreposição entre as elipses (Figura 1). Por meio da PLS-DA foi possível capturar diferenças relevantes entre os grupos ( $R^2 = 0,91$ ), mesmo quando a variância total dos dados foi limitada.



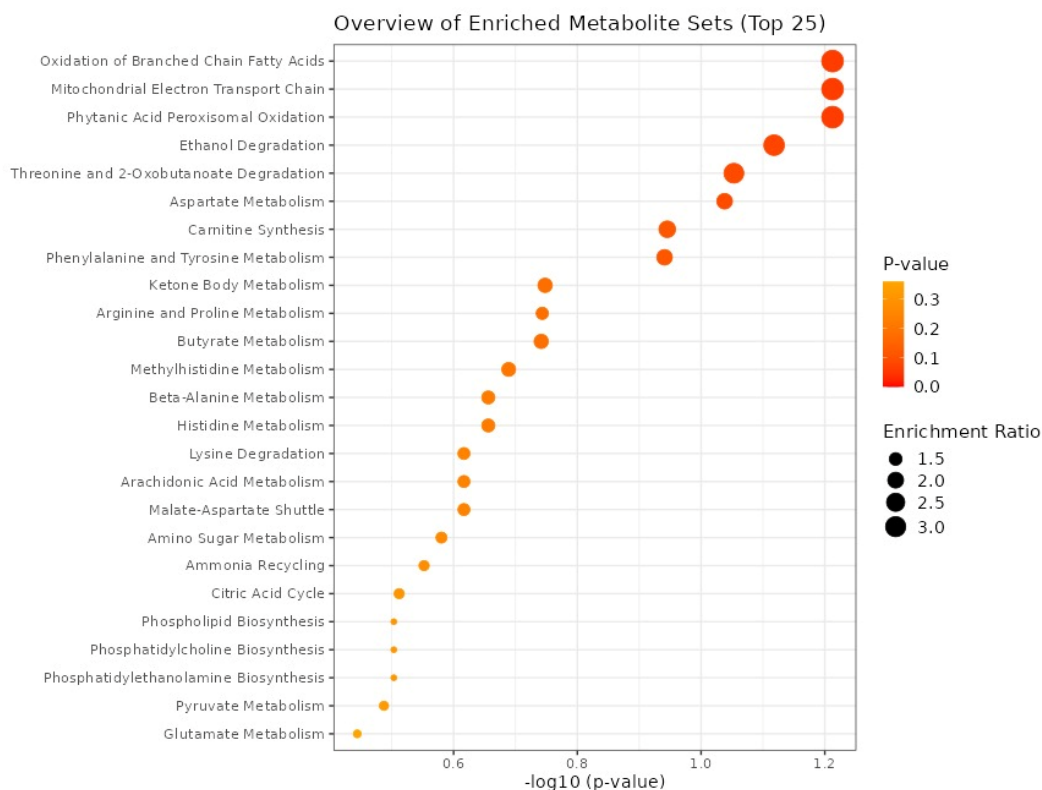
**Figura 1.** Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) do perfil metabólico do sangue de bovinos nelores com diferentes taxas de crescimento no confinamento. HP = alta taxa de crescimento; LP = Baixa taxa de crescimento

Considerando a distinção entre os grupos HP e LP demonstrada pela PLS-DA, foi realizada a análise de VIP, onde foram identificados 15 metabólitos relevantes para a separação entre os grupos experimentais (Figura 2). Foi utilizado o ponto de corte de 1,0 para discriminar os metabólitos com maior impacto, onde o grupo HP apresentou maiores VIP scores para treonina, glicolato, histidina, isobutirato e creatinina, enquanto o grupo LP apresentou maiores VIP scores para fenilamina, succinato, acetato, asparagina, galactarato e 2-hidroxisobutirato (2-HIB).

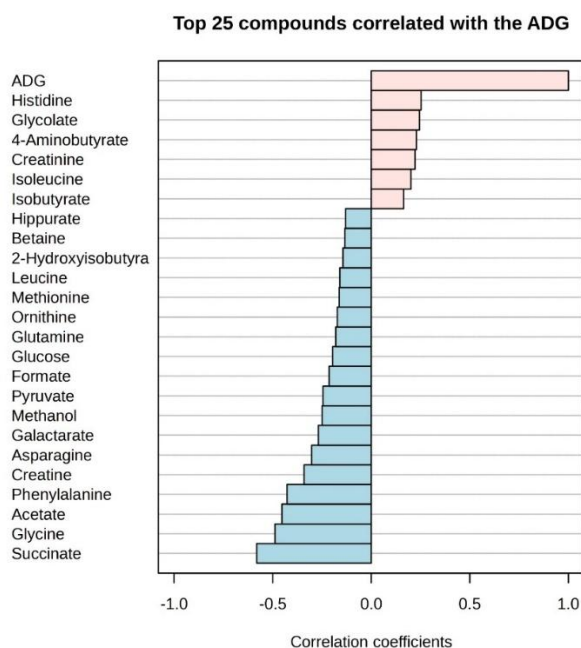


**Figura 2.** Projeção de variáveis de importância (VIP) do perfil metabólico do sangue de bovinos nelores com diferentes taxas de crescimento no confinamento. HP = alta taxa de crescimento; LP = Baixa taxa de crescimento

As vias metabólicas que foram modificadas entre os grupos HP e LP foram identificadas (Figura 3). As vias mais impactadas foram a oxidação de cadeias de ácidos graxos ramificados ( $P = 0,06$ ), cadeia transportadora de elétrons mitocondrial ( $P = 0,06$ ), oxidação peroxissomal do ácido fitânico ( $P = 0,06$ ) degradação do etanol ( $P = 0,08$ ) e oxidação da treonina e 2-oxobutanoato ( $P = 0,09$ ). Além disso, verificou-se correlação entre os metabólitos identificados e a variável GMD, demonstrando associação negativa com os metabólitos acetato, succinato e glicina (Figura 4).



**Figura 3.** Resultados do enriquecimento de vias metabólicas do sangue de bovinos Nelore com diferentes taxas de crescimento no confinamento. HP (alta taxa de crescimento) versus LP (Baixa taxa de crescimento)



**Figura 4.** Correlação entre metabolitos de importantes para diferenciação do desempenho e o ganho médio diário (GMD) em bovinos Nelore com diferentes taxas de crescimento no confinamento. HP (alta taxa de crescimento) versus LP (Baixa taxa de crescimento).

## 2.4. DISCUSSÃO

Identificar os fatores que compõem o desempenho dos animais é essencial para aumentar a produtividade na cadeia da carne. Animais com maiores taxas de crescimento (HP) apresentaram resultados de desempenho superiores durante o confinamento, com maiores valores de PVf, GMD, EA, EGS e PCQ e valores semelhantes de AOL e RC. Bovinos HP, evidenciados por maiores valores de GMD, tendem a apresentar carcaças mais pesadas devido ao efeito acumulativo desse maior ganho (Foote et al., 2024; Silva et al., 2019). Esse efeito também está fortemente associado a uma maior eficiência alimentar, pois esses animais conseguem aproveitar melhor os nutrientes da dieta, favorecendo o crescimento (Foote et al., 2017). Castro Bulle et al. (2007), ao trabalharem com bovinos de diferentes potenciais para ganho, também identificaram o mesmo padrão de resposta, com maiores valores de PVf, EA, PCQ e EGS para animais com maior potencial de ganho e não constataram diferenças significativas para o RC e AOL e gordura visceral. Os autores indicaram que o aumento do PCQ se deve ao maior valor PVf, levando em conta que não houve aumento no RC e AOL, fato que também deve ter acontecido no presente estudo.

Esses maiores valores de PVf, EA e PCQ em animais HP indicam que bovinos com altas taxas de crescimento provavelmente apresentem modificações no seu metabolismo para sustentar essa melhora na performance durante o confinamento. Considerando que o sangue é responsável pelo transporte dos produtos metabólicos dos tecidos e órgãos, além de ter alta relação com as moléculas presentes nos demais tipos de amostras biológicas, os metabólitos identificados no presente estudo podem fornecer informações valiosas sobre o metabolismo geral de bovinos divergentes em termos de crescimento (De Paepe et al., 2018; Psychogios et al., 2011). Como reportado por Zhu et al. (2022) ao estudarem o perfil metabólico do soro sanguíneo, fezes e urina de vacas leiteiras, houve uma correlação entre os metabólitos presentes nas diferentes amostras biológicas, onde cerca de 75% dos metabólitos presentes no sangue foram encontrados nos demais materiais avaliados.

No presente estudo, os metabólitos que apresentaram maiores VIP score para a diferenciação entre os animais de diferentes taxas de crescimento estão principalmente relacionados ao metabolismo energético e proteico, como fenilalanina, treonina, succinato e acetato, evidenciando as diferenças metabólicas para a maximização do ganho de peso.

Esse resultado pode estar associado ao fato da síntese de proteína e gordura ser um processo dispendioso para o organismo pois é extremamente oneroso em termos de energia, necessitando de uma maior eficiência energética por parte de animais em crescimento (Webster, 1980).

Os ruminantes, diferentes dos não ruminantes, apresentam baixa disponibilidade de glicose no intestino, dependendo da gliconeogênese para a formação da maior parte desse substrato, além de utilizar outras vias metabólicas para geração de energia (Hocquette et al., 2001; Larsen e Kristensen, 2014). Estudos realizados em ovinos da raça Dorset por Overton et al. (1999) demonstraram que ruminantes com alta demanda energética diversificam os substratos para geração de energia, aumentando a degradação de aminoácidos para utilização na gliconeogênese. Bovinos do grupo HP apresentaram maior concentração de metabolitos relacionados ao metabolismo energético, principalmente com a gliconeogênese, ciclo da ureia e função mitocondrial.

Dentre os metabolitos de maior concentração no sangue de bovinos HP e com alto escore para separação entre os grupos esta a treonina, aminoácido com grande participação no metabolismo de lipídios, síntese de proteínas e na saúde e função intestinal (Tang et al., 2021). Além disso, a treonina pode participar da gliconeogênese, sendo um dos aminoácidos doadores de carbono para essa via metabólica (Tetrick e Odle, 2020). No estudo realizado por Egan et al. (1983) os pesquisadores demonstraram a importância da treonina no metabolismo de ruminantes ao analisarem seu efeito na gliconeogênese em carneiros castrados, onde a transferência de carbono da treonina para a glicose aumentou em animais com maior exigência energética. Resultado semelhante foi verificado por Karisa et al. (2014), trabalhando com a associação de diversos metabolitos no plasma de bovinos de corte cruzados (*Bos taurus* x *Bos indicus*), que reportaram maiores concentrações de treonina em animais com maior eficiência alimentar.

Também foi observado maiores concentrações de histidina em animais HP. Assim como a treonina, a histidina também é um aminoácido glicogênico, além de ser o principal aminoácido limitante do crescimento de bovinos (Schoof et al., 2000; Tetrick e Odle, 2020; Vanhatalo et al., 1999). Ao avaliarem vacas em lactação com alta demanda energética recebendo níveis crescente de histidina, Yang et al. (2024), observaram maior produção de glicose hepática e maior expressão de genes relacionados a gliconeogênese em animais com níveis mais elevados de suplementação com histidina. A maior concentração de aminoácidos glicogênicos no sêrum de animais HP pode indicar uma diversificação da

utilização dos substratos para geração de energia em ruminantes com alta demanda energética. A análise de enriquecimento funcional demonstrou um enriquecimento da via de degradação treonina e do 2-oxobutanoato, metabolismo de histidina e do ciclo do TCA, que colabora com a hipótese de que aminoácidos, como a treonina e histidina, estão sendo degradados para geração de energia, sendo metabolizados e utilizados no ciclo do TCA como succinil-coA (Edgar, 2002; Paxton et al., 1986).

A ornitina é um aminoácido não proteico fundamental no ciclo da ureia, responsável por auxiliar na eliminação do excesso de amônia gerada pela metabolização de compostos nitrogenados, como os aminoácidos (Stewart e Smith, 2005). A maior concentração de ornitina nos animais HP pode ser um indicativo de uma maior regulação no ciclo da ureia, devido a provável maior degradação de aminoácidos para formação de energia, levando em consideração que a amônia no fígado pode influenciar negativamente na gliconeogênese (Overton et al., 1999). De forma similar, Antonelo et al. (2022) identificaram maior abundância de enzimas relacionadas a gliconeogênese em bovinos cruzados de Angus x Nelore com crescimento acelerado.

A maior concentração de creatinina no soro do sangue dos animais HP no início do período de terminação em confinamento pode estar associada a maior demanda energética desses animais em comparação aos LP, visto que a creatinina está relacionada a rápida geração de energia (Kashani et al., 2020). A creatinina faz parte do metabolismo energético do músculo, sendo originada da oxidação da fosfocreatina para obtenção de ATP de forma mais rápida (Wyss e Kaddurah-Daouk, 2000). Imaz, et al (2022) também identificou maior concentração de creatinina em animais de rápido crescimento, sugerindo uma importância da geração rápida de energia nesses animais.

A maior concentração de aminoácidos livres, como a fenilalanina e asparagina, no soro do sangue de bovinos LP pode ser um indicativo da baixa capacidade desses animais de utilizarem os aminoácidos disponíveis para síntese proteica, levando a uma acumulação desses metabólitos no serum. A fenilalanina é um dos aminoácidos essenciais e limitantes para bovinos e está envolvida na formação de aminoácidos como, a tirosina (Kaufman, 1959; Terré et al., 2006). Karisa et al. (2014) também verificaram maior concentração de fenilalanina no plasma de bovinos com alto consumo alimentar residual (CAR), caracterizados como ineficientes e associados com baixas taxas de crescimento. Apesar da diferença no metabolismo proteico entre os grupos de crescimento, não foi identificado efeito sobre a AOL por ultrassonografia, fato esse também registrado por Consolo et al. (2021) ao avaliar o metabolismo de machos Nellore

com divergentes em CAR.

O metabolismo energético dos bovinos LP em relação a animais HP parece também ter sido alterado, tendo em visto os altos escores de succinato e acetato na análise de VIP. O acetato e o succinato têm diferentes vias de utilização, sendo comumente convertidos em acetil-CoA e succinil-CoA e participando do ciclo do TCA para geração de energia (Balwin e Allison, 1983). O acúmulo desses metabolitos em animais de crescimento lento pode estar associado a uma menor eficiência energética relacionada ao ciclo do TCA, refletindo uma baixa utilização dos substratos disponíveis. Resultados semelhantes foram encontrados por Kinasa et al. (2014) que descreveram maiores concentrações de acetato e succinato em animais ineficientes (alto CAR).

O acetato é um dos principais precursores da síntese de lipídeos em ruminantes, sendo convertido em acetil-CoA e posteriormente em malonil-CoA, compondo a estrutura básica dos ácidos graxos (Hanson e Ballard, 1967). Ademais, o grupo acil doado pelo acetato corresponde a cerca de 70 - 80 % da quantidade de acil necessário para formação de gordura subcutânea em bovinos (Smith e Crouse, 1984). A menor EGS em animais LP pode estar relacionado com essa alta concentração de acetato no soro sanguíneo desses animais devido a uma ineficiência na conversão de acetato em ácidos graxos, impactando a lipogênese. Essa relação também foi verificada por Connolly et al. (2019) ao identificarem uma tendência em correlação negativa entre a concentração de acetato no plasma e a EGS ao abate em novilhos cruzados Wagyu.

A maior concentração de succinato em animais de baixa taxa de crescimento pode estar associada com uma possível oxidação pela succinato desidrogenase, levando a um maior fluxo de elétrons para a cadeia transportadora de elétrons (CTE) na mitocôndria que será dissipado na forma de calor, diminuindo assim a eficiência energética e gerando espécies reativas de oxigênio (ROS; Mills et al. 2018). Esse maior acúmulo de ROS é prejudicial para o organismo, pois está associado a peroxidação de lipídios, principalmente de cadeia poli-insaturada, podendo induzir a diferentes tipos de morte celular, como apoptose e autofagia, fazendo com que o organismo aumente o gasto de energia com manutenção (Su et al., 2019; Niemann et al., 2022). Além disso, o excesso de ROS em animais ineficientes também pode aumentar a atividade da ubiquitina e da Akt/mTOR, aumentando a degradação e diminuindo a síntese de proteínas, como demonstrado por Yang et al. (2021) ao avaliarem o genoma de bovinos divergentes em eficiência alimentar.

Outro fator que apoia essa hipótese é o enriquecimento da CTE mitocondrial e da

degradação de etanol, que gera acetato (Yamashita et al., 2001). A correlação negativa do succinato e do acetato com o GMD encontrada neste trabalho demonstra a influência do acúmulo desses metabólitos no desempenho no confinamento. Estudos realizados com bovinos e ovinos sugerem que a ineficiência na cadeia respiratória mitocondrial pode ser um dos fatores relacionados à baixa eficiência energética de animais com baixo ganho de peso e alto CAR (Kolath et al., 2015; Sharifabadi et al., 2006). Entretanto, essa relação precisa ser melhor estudada, pois Gómez et al. (2022) e Clemmons et al. (2020) utilizando o músculo e o fluido ruminal, respectivamente, encontraram efeito contrário, com um aumento da concentração de succinato em animais de maior eficiência.

Dessa forma, os resultados do presente experimento sugerem, que a performance no confinamento de bovinos Nelore está relacionada também com sua capacidade inata em modular seu metabolismo para adaptar ao sistema de produção ao qual foi imposto, indicado pelas diferenças metabólicas entre animais de alto e baixo ganho de peso no início do período de confinamento.

## **2.5. CONCLUSÃO**

Os resultados deste estudo indicaram que bovinos Nelore com diferentes taxas de crescimento apresentaram distintas adaptações metabólicas durante o confinamento. Animais com maior GMD demonstraram um perfil metabólico associado a maior eficiência energética e proteica, evidenciado pelo aumento na concentração de metabólitos relacionados à gliconeogênese, ciclo da ureia e função mitocondrial, como treonina, histidina e ornitina. Por outro lado, bovinos de menor GMD apresentaram acúmulo de metabólitos como succinato e acetato, sugerindo menor eficiência na utilização de substratos energéticos. Essas diferenças metabólicas demonstraram que a performance no confinamento está diretamente relacionada à capacidade inata dos animais de modular seu metabolismo para atender às demandas energéticas do crescimento. Assim, a identificação desses marcadores metabólicos pode contribuir para estratégias nutricionais e de seleção voltadas à eficiência produtiva de bovinos de corte.

## REFERÊNCIAS

Alexeev, E. E., He, X., Slupsky, C. M., Lönnnerdal, B. (2017). Effects of iron supplementation on growth, gut microbiota, metabolomics and cognitive development of rat pups. **PLOS ONE**, 12(6), e0179713.

Antonelo, D. S., Gómez, J. F., et al. (2022). Proteome basis for the biological variations in color and tenderness of longissimus thoracis muscle from beef cattle differing in growth rate and feeding regime. **Food Research International**, 153, 110947.

Artegoitia, V. M., Foote, A. P., Lewis, R. M., Freetly, H. C. (2019). Metabolomics profile and targeted lipidomics in multiple tissues associated with feed efficiency in beef steers. **ACS omega**, 4(2), 3973-3982.

Artegoitia, V. M., Newman, J. W., Foote, A. P., Shackelford, S. D., King, D. A., Wheeler, T. L., Lewis, R.M., Freetly, H. C. (2022). Non-invasive metabolomics biomarkers of production efficiency and beef carcass quality traits. **Scientific reports**, 12(1), 231.

Baldwin, R. L., Allison, M. J. (1983). Rumen metabolism. **Journal of Animal Science**, 57(suppl\_2), 461-477.

Brosnan, J. T., Brosnan, M. E. (2010). Creatine metabolism and the urea cycle. **Molecular genetics and metabolism**, 100, S49-S52.

Capper, J. L. (2011). The environmental impact of beef production in the United States: 1977 compared with 2007. **Journal of animal science**, 89(12), 4249-4261.

Carlotti, A. P. D. C. P., Bohn, D., Matsuno, A. K., Pasti, D. M., Gowrishankar, M., Halperin, M. L. (2008). Indicators of lean body mass catabolism: emphasis on the creatinine excretion rate. **QJM: An International Journal of Medicine**, 101(3), 197-205.

Castro Bulle, F. C. P., Paulino, P. V., Sanches, A. C., Sainz, R. D. (2007). Growth, carcass quality, and protein and energy metabolism in beef cattle with different growth potentials and residual feed intakes<sup>1,2</sup>. **Journal of Animal Science**, 85(4), 928–936.

Cheng, G., Harmel, R. D., et al. (2022). Evaluation of the APEX cattle weight gain component for grazing decision-support in the Western Great Plains. **Rangeland Ecology & Management**, 82, 1-11.

Choi, I., Son, H., Baek, J. H. (2021). Tricarboxylic acid (TCA) cycle intermediates: regulators of immune responses. **Life**, 11(1), 69.

Chouchani, E. T., Pell, V. R., et al. (2014). Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS. **Nature**, 515(7527), 431-435.

Clemmons, B. A., Powers, J. B., Campagna, S. R., Seay, T. B., Embree, M. M., Myer, P. R. (2020). Rumen fluid metabolomics of beef steers differing in feed efficiency. **Metabolomics**, 16(2).

Connolly, S., Dona, A., Wilkinson-White, L., Hamblin, D., D'Occhio, M., González, L. A. (2019). Relationship of the blood metabolome to subsequent carcass traits at slaughter in feedlot Wagyu crossbred steers. **Scientific Reports**, 9(1).

Cônsolo, N. R. B., Buarque, et al. (2021). Muscle and liver metabolomic signatures associated with residual feed intake in Nelore cattle. **Animal Feed Science and Technology**, 271, 114757.

De Paepe, E., Van Meulebroek, L., Rombouts, C., Huysman, S., Verplanken, K., Lapauw, B., Wauters, J., Hemeryck, L. Y., Vanhaecke, L. (2018). A validated multi-matrix platform for metabolomic fingerprinting of human urine, feces and plasma using ultra-high performance liquid-chromatography coupled to hybrid orbitrap high-resolution mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**. 1033, 108-118.

Dikalov, S., Panov, A., Dikalova, A. (2024). Critical Role of Mitochondrial Fatty Acid Metabolism in Normal Cell Function and Pathological Conditions. **International Journal of Molecular Sciences**, 25(12), 6498.

Duarte, D., Pita, C., Negrão, F., Carreira, I., Pereira, J. L., Costa, A. L., Almeida, M. C., Gil, A. M. (2022). Impact of Gestational Diabetes and Treatment on the Metabolome of Non-invasive Biofluids: Searching for New Biomarkers. **Revista Portuguesa de Diabetes**, 17(2), 63-76.

Edgar, A. J. (2002). The human L-threonine 3-dehydrogenase gene is an expressed pseudogene. **BMC genetics**, 3(1), 1-13.

Egan, A. R., MacRae, J. C., Lamb, C. S. (1983). Threonine metabolism in sheep: 1. Threonine catabolism and gluconeogenesis in mature blackface wethers given poor quality hill herbage. **British Journal of Nutrition**, 49(3), 373-383.

Estevam, D. D., Pereira, I. C., Rigueiro, A. L. N., Perdigão, A., da Costa, C. F., Rizzieri, R. A., Pereira, M. C. S., Martins, C. L., Millen, D. D., Arrigoni, M. D. B. (2020). Feedlot performance and rumen morphometrics of Nellore cattle adapted to high-concentrate diets over periods of 6, 9, 14 and 21 days. **Animal**, 14(11), 2298–2307

Fievez, V., Colman, E., Castro-Montoya, J. M., Stefanov, I., Vlaeminck, B. (2012). Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function—An update. **Animal Feed Science and Technology**, 172(1-2), 51–65.

Foote, A. P., Keel, B. N., Zarek, C. M., Lindholm-Perry, A. K. (2017). Beef steers with average dry matter intake and divergent average daily gain have altered gene expression in the jejunum. **Journal of Animal Science**, 95(10), 4430–4439.

Foote, A. P., Salisbury, C. M., King, M. E., Rathert-Williams, A. R., McConnell, H. L., Beck, M. R. (2024). Association of glucose metabolism and insulin resistance with feed efficiency and production traits of finishing beef steers. **Journal of Animal Science**, 102, skae050.

Forano, E., Delort, A. M., Matulova, M. (2008). Carbohydrate metabolism in *Fibrobacter succinogenes*: what NMR tells us. **Microbial Ecology in Health and Disease**, 20(2), 94-102.

Friedrich, N., Budde, K., et al. (2012). Short-Term Changes of the Urine Metabolome After Bariatric Surgery. **OMICS: A Journal of Integrative Biology**, 16(11), 612–620.

Gómez, J.F.M.; Cònsolo, N.R.B.; Antonelo, D.S.; Beline, M.; Gagaoua, M.; Higuera-Padilla, A.; Colnago, L.A.; Gerrard, D.E.; Silva, S.L. Impact of Cattle Feeding Strategy on the Beef Metabolome. **Metabolites** 2022, 12, 640

Greenwood, P. L. (2021). An overview of beef production from pasture and feedlot globally, as demand for beef and the need for sustainable practices increase. **Animal**, 15, 100295.

Hansen, R. P. (1966). Phytanic acid and other branched-chain fatty acid constituents of bovine rumen bacteria. **Journal of Dairy Research**, 33(3), 333-342.

Hanson, R. W., Ballard, F. J. (1967). The relative significance of acetate and glucose as precursors for lipid synthesis in liver and adipose tissue from ruminants. **Biochemical Journal**, 105(2), 529-536.

Hocquette, J. F., Ortigues-Marty, I., Vermorel, M. (2001). Manipulation of tissue energy metabolism in meat-producing ruminants-review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 14(5), 720-732.

Imaz, J. A., García, S., González, L. A. (2022). The metabolomics profile of growth rate in grazing beef cattle. **Scientific Reports**, 12(1), 2554.

Kamarauskaite, J., Baniene, R., Trumbeckas, D., Strazdauskas, A., Trumbeckaite, S. (2020). Increased Succinate Accumulation Induces ROS Generation in In Vivo Ischemia/Reperfusion-Affected Rat Kidney Mitochondria. **BioMed Research International**, 2020, 1–9.

Kashani, K., Rosner, M. H., Ostermann, M. (2020). Creatinine: from physiology to clinical application. **European journal of internal medicine**, 72, 9-14.

Kaufman S. (1959). Studies on the mechanism of the enzymatic conversion of phenylalanine to tyrosine. **Journal of Biological Chemistry** 234, 2677–2682.

Kolath, W. H., Kerley, M. S., Golden, J. W., Keisler, D. H. (2006). The relationship between mitochondrial function and residual feed intake in Angus steers<sup>1</sup>. **Journal of Animal Science**, 84(4), 861–865.

Kristensen, N. B., Danfaer, A., Agergaard, N. (1998). Absorption and metabolism of short-chain fatty acids in ruminants. **Archives of Animal Nutrition**, 51(2-3), 165-175.

Larsen, M., Kristensen, N. B. (2013). Precursors for liver gluconeogenesis in periparturient dairy cows. **Animal**, 7(10), 1640–1650.

Li, Le, T., Park, S. (2022). Development of efficient microbial cell factory for whole-cell bioconversion of L-threonine to 2-hydroxybutyric acid. **Bioresource Technology**, 344, 126090.

Levy, S., Jiang, A. K., Grant, M. R., Arp, G., Minabou Ndjite, G., Jiang, X., Hall, B. (2025). Convergent evolution of oxidized sugar metabolism in commensal and pathogenic microbes in the inflamed gut. **Nature Communications**, 16(1), 1121.

Li, J., Wang, Y., Mukiibi, R., Karisa, B., Plastow, G. S., Li, C. (2022). Integrative analyses of genomic and metabolomic data reveal genetic mechanisms associated with carcass merit traits in beef cattle. **Scientific Reports**, 12(1), 3389.

Miccheli, A., Capuani, G., et al. (2015). Urinary <sup>1</sup>H-NMR-based metabolic profiling of children with NAFLD undergoing VSL#3 treatment. **International Journal of Obesity**, 39(7), 1118–1125.

Mills, E. L., Pierce, K. A., et al. (2018). Accumulation of succinate controls activation of adipose tissue thermogenesis. **Nature**, 560(7716), 102-106.

Gómez, J. F. M, Antonelo, D. S., et al. (2022). Feeding strategies impact animal growth and beef color and tenderness. **Meat Science**, 183, 108599.

Niemann, B., Haufs-Brusberg, S., et al. (2022). Apoptotic brown adipocytes enhance energy expenditure via extracellular inosine. **Nature**, 609(7926), 361-368.

Novais, F. J., Pires, P. R. L., et al. (2019). Identification of a metabolomic signature associated with feed efficiency in beef cattle. **BMC genomics**, 20, 1-10.

OECD/FAO (2018). **OECD-FAO Agricultural Outlook 2018-2027**, OECD Publishing, Paris/Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome

Ogunade, I., Oyebade, A., Osa-Andrews, B., Peters, S. (2021). Plasma carboxyl-metabolome is associated with average daily gain divergence in beef steers. **Animals**, 11(1), 67.

Overton, T. R., Drackley, J. K., Ottemann-Abbamonte, C. J., Beaulieu, A. D., Emmert, L. S., Clark, J. H. (1999). Substrate utilization for hepatic gluconeogenesis is altered by increased glucose demand in ruminants. **Journal of Animal Science**, 77(7), 1940.

Paxton, R., Scislowski, P. W., Davis, E. J., Harris, R. A. (1986). Role of branched-chain 2-oxo acid dehydrogenase and pyruvate dehydrogenase in 2-oxobutyrate metabolism. **Biochemical Journal**, 234(2), 295-303.

Preidis, G. A., Keaton, M. A., Campeau, P. M., Bessard, B. C., Conner, M. E., Hotez, P. J. (2014). The undernourished neonatal mouse metabolome reveals evidence of liver and biliary dysfunction, inflammation, and oxidative stress. **The Journal of nutrition**, 144(3), 273-281.

Psychogios, N., Hau, D. D., et al. (2011). The human serum metabolome. *PLoS one*, 6(2), e16957.

Ramos, P. M., Delgado, E. F., et al. (2025). Temperament Upregulates Mitochondrial Enzymes and Negatively Affects Myofibrillar Fragmentation in Beef of Excitable *Bos taurus indicus* Cattle. **Metabolites**, 15(1), 24.

Rohwerder, T., Müller, R. H. (2010). Biosynthesis of 2-hydroxyisobutyric acid (2-HIBA) from renewable carbon. **Microbial cell factories**, 9, 1-10.

Schifano, E., Conta, G., et al. (2022). 2-hydroxyisobutyric acid (2-HIBA) modulates ageing and fat deposition in *Caenorhabditis elegans*. **Frontiers in Molecular Biosciences**, 9, 986022.

Schoof, A., Gabel, M., Voigt, J., Schönhusen, U., Kluth, H. (2000). Investigations on the influence of duodenal histidine infusion on nitrogen and amino acid turnover of growing German holstein bulls. **Archiv Für Tierernaehrung**, 53(3), 303–321.

Seifert, E. L., Estey, C., Xuan, J. Y., Harper, M. E. (2010). Electron transport chain-dependent and-independent mechanisms of mitochondrial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> emission during long-chain fatty acid oxidation. **Journal of Biological Chemistry**, 285(8), 5748-5758.

Sharifabadi, H. R., Zamiri, M. J., Rowghani, E., Bottje, W. G. (2012). Relationship between the activity of mitochondrial respiratory chain complexes and feed efficiency in fat-tailed Ghezel lambs<sup>1</sup>. **Journal of Animal Science**, 90(6), 1807–1815.

Silva, L. H. P., Paulino, et al. (2017). Effect of post-weaning growth rate on carcass traits and meat quality of Nellore cattle. **Meat Science**, 123, 192–197.7

Smith, S. B., Crouse, J. D. (1984). Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue. **The Journal of nutrition**, 114(4), 792-800.

Stewart, G. S., Smith, C. P. (2005). Urea nitrogen salvage mechanisms and their relevance to ruminants, non-ruminants and man. **Nutrition research reviews**, 18(1), 49-62.

Su, L. J., Zhang, J. H., et al. (2019). Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis. **Oxidative medicine and cellular longevity**, 2019(1), 5080843.

Tedeschi, L. O., Fox, D. G., Guioy, P. J. (2004). A decision support system to improve individual cattle management. 1. A mechanistic, dynamic model for animal growth. **Agricultural Systems**, 79(2), 171–204..

Terré, M., Bach, A., Devant, M. (2006). Performance and behaviour of calves reared in groups or individually following an enhanced-growth feeding programme. **J. Dairy Res.** 73, 480–486.

Tetrick, M. A., Odle, J. (2020). What constitutes a gluconeogenic precursor?. **The Journal of Nutrition**, 150(9), 2239-2241.

Tran, L., Masters, H., Roust, L. R., Katsanos, C. S. (2015). A new method to measure muscle protein synthesis in humans by endogenously introduced d<sub>9</sub>-leucine and using blood for precursor enrichment determination. **Physiological reports**, 3(8), e12479.

Vanhatalo, A.; Huhtanen, P.; Toivonen, V.; Varvikko, T. (1999). Response of dairy cows fed grass silage diets to abomasal infusions of histidine alone or in combinations with methionine and lysine. **J. Dairy Sci.** 82, 2674–2685.

Viegas, C. M., Costa Ferreira, G., et al. (2008). Evidence that 3-hydroxyisobutyric acid inhibits key enzymes of energy metabolism in cerebral cortex of young rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, 26(3-4), 293-299.

Vlaeminck, B., Fievez, V., Tamminga, S., Dewhurst, R. J., Van Vuuren, A., De Brabander, D., Demeyer, D. (2006). Milk odd-and branched-chain fatty acids in relation to the rumen fermentation pattern. **Journal of Dairy Science**, 89(10), 3954-3964.

Wagenmakers, A. J. (1998). Protein and amino acid metabolism in human muscle. **Skeletal muscle metabolism in exercise and diabetes**, 307-319.

Wagner, J.J., Archibeque, S.L., Feuz, D.M., (2014). The Modern Feedlot for Finishing Cattle. **Annual Review of Animal Biosciences**, 2, 535–554

Wang, Y., Palmfeldt, J., Gregersen, N., et al. (2019). Mitochondrial fatty acid oxidation and the electron transport chain comprise a multifunctional mitochondrial protein complex. **Journal of Biological Chemistry**, 294(33), 12380-12391.

Webster, A. J. (1980). The energetic efficiency of growth. **Livestock Production Science**, 7(3), 243–252.

Wyss, M., Kaddurah-Daouk, R. (2000). Creatine and creatinine metabolism. **Physiological reviews**, 80(3), 1107-1213.

Xia, J., Wishart, D. S. (2010). MSEA: a web-based tool to identify biologically meaningful patterns in quantitative metabolomic data. **Nucleic acids research**, 38(suppl\_2), W71-W77.

Yamashita, H., Kaneyuki, T., Tagawa, K. (2001). Production of acetate in the liver and its utilization in peripheral tissues. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, 1532(1-2), 79-87.

Yang, C., Zhu, Y., Ding, Y., Huang, Z., Dan, X., Shi, Y., Kang, X. (2022). Identifying the key genes and functional enrichment pathways associated with feed efficiency in cattle. **Gene**, 807, 145934.

Yang, T., Cheng, Z., Jiang, M., Ma, X., Datsomor, O., Zhao, G., Zhan, K. (2021). Histidine promotes the glucose synthesis through activation of the gluconeogenic pathway in bovine hepatocytes. **Animals**, 11(11), 3295.

Zhai, X., Dang, L., Wang, S., Li, W., Sun, C. (2024). Effects of Succinate on Growth Performance, Meat Quality and Lipid Synthesis in Bama Miniature Pigs. **Animals**, 14(7), 999.

Zhu, C., Zhang, Q., Zhao, X., Yang, Z., Yang, F., Yang, Y., Tang, J., Laghi, L. (2023). Metabolomic analysis of multiple biological specimens (feces, serum, and urine) by <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy from dairy cows with clinical mastitis. **Animals**, 13(4), 741.

Zhao, R. Z., Jiang, S., Zhang, L., Yu, Z. B. (2019). Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling. **International journal of molecular medicine**, 44(1), 3-15.