



CARACTERIZAÇÃO METABOLÔMICA DAS FEZES DE TOUROS DA RAÇA GIR SUBMETIDOS A SELEÇÃO

Maria Fernanda Lourenço **Sercundes**¹; Lenira El Faro **Zadra**²; Josineudson Augusto II de Vasconcelos da **Silva**³; Matheus Henrique Vargas de **Oliveira**⁴; Jessica Moraes **Malheiros**⁵

Nº 22709

RESUMO – O projeto objetiva explorar o perfil metabólico das fezes de touros Gir no intuito de compreender o fenótipo de consumo alimentar residual. Para tanto, foram utilizadas informações de 20 touros da raça Gir com idade média de 11 meses (\pm 330 dias), pertencentes da Associação Brasileira dos Criadores de Gir (ASSOGIR) e do Programa Nacional de Fomento e Melhoramento Genético para Produção de Carne da Raça Gir (CARNEGIR). Os animais foram submetidos ao teste de eficiência alimentar no ano de 2020 e permaneceram durante 77 dias no confinamento, sendo 21 dias para adaptação a dieta/instalação e 56 dias de teste propriamente dito. A baia foi equipada com cochos e balanças eletrônicas, para avaliar os fenótipos de consumo de matéria seca (CMS, kg/dia), ganho de peso diário (GPD, kg/dia) e peso vivo metabólico (PVM, kg). No início e final da prova, as fezes foram coletadas da ampola retal de cada bovino para os ensaios de metabolômica por meio da Ressonância Magnética Nuclear (¹H RMN). O consumo alimentar residual (CAR, kg MS/dia) foi calculado por meio da regressão linear do CMS em GPD e PVM. Os metabólitos foram identificados, no intuito de avaliar as vias metabólicas e elucidar os mecanismos envolvidos no CAR. Foram identificados 58 metabólitos, sendo 36,21% ácidos orgânicos, 29,31% aminoácidos, 6,90% álcool, animas e nucleotídeos/purinas/pirimidinas, 5,17% cetonas, 3,45% açúcares e compostos organoheterocíclicos, e 1,72% benzenoídes. As novas tecnologias empregadas para identificar biomarcadores para a eficiência alimentar poderão auxiliar no processo de seleção dos animais da raça Gir.

Palavras-chave: Bos taurus indicus, genes, metabólito.

¹Graduanda do Curso de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FMVZ/UNESP), Botucatu, SP, Brasil. *e-mail: m.sercundes@unesp.br

²Orientadora, Instituto de Zootecnia (APTA/SAA), Sertãozinho, SP, Brasil. *e-



mail: lenira.zadra@sp.gov.br

³Colaborador, Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FMVZ/UNESP), Botucatu, SP, Brasil.

⁴Colaborador, Pós-Graduando do Programa "Genética e Melhoramento Animal", Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (FCAV/UNESP), Jaboticabal, SP, Brasil.

⁵Colaboradora, Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, PR, Brasil.

ABSTRACT – The project aimed to explore the metabolomic profile of feces from Gir bulls in order to understand the phenotype of residual feed intake. This study used information from 20 Gir bulls with an average age of 11 months (± 330 days), belonging to the Brazilian Association of Gir Breeders (ASSOGIR) and the National Program for the Promotion and Genetic Improvement for the Production of Meat of the Breed. Gir (CARNEGIR). The animals were submitted to the feed efficiency test and remained for 77 days in the confinement, considering 21 days to adapt to the diet/installation and 56 days of the test itself. The pen was equipped with troughs and electronic scales to evaluate the phenotypes of dry matter intake (DMI, kg/day), daily weight gain (DWG, kg/day) and metabolic live weight (MVW, kg). At the beginning and end of the test, feces were collected from the rectal ampulla of each bovine for metabolomics assays using Nuclear Magnetic Resonance (^1H NMR). Residual feed intake (CAR, kg DM/day) was calculated using linear regression of DMI on DWG and MVP. Metabolites were identified in order to evaluate the metabolic pathways and elucidate the mechanisms involved in CAR. 58 metabolites were identified, being 36.21% organic acids, 29.31% amino acids, 6.90% alcohol, animals and nucleotides/purines/pyrimidines, 5.17% ketones, 3.45% sugars and organoheterocyclic compounds, and 1.72% benzenoids. The new technologies used to identify biomarkers for feed efficiency may help in the selection process of Gir animals.

Keywords: Bos taurus indicus, genes, metabolite

1. INTRODUÇÃO

No ano de 2021, o Brasil contava com um total de 252 milhões de bovinos, permitindo ao país tornar-se o maior exportador, segundo produtor e terceiro maior consumidor de carne bovina do



mundo (USDA, 2021). A raça Gir (*Bos taurus indicus*) e seus cruzamentos com a subespécie *Bos taurus taurus*, além das outras raças zebuínas são a base do rebanho nacional. Este fato se deve, sobretudo em razão da adaptabilidade ao clima tropical, resistência a parasitas e produtividade em sistema extensivo sob pastejo (Carvalho et al., 2014; Cônsolo et al., 2016). Deste modo, ao considerar o aumento da demanda por proteína animal aliada à diminuição dos custos de produção, bem como impacto ambiental, a adoção de tecnologias associadas ao bovino eficiente na conversão do alimento em carne pode permitir incremento na produtividade nacional.

A raça Gir foi introduzida no país por volta de 1900, com objetivo de seleção para produção de carne, entretanto, tornou-se de dupla aptidão (corte e leite) em decorrência da seleção ao longo dos anos (Rosa et al., 2014). Portanto, ao considerar as características selecionadas para produção de carne, a inclusão dos fenótipos de eficiência alimentar torna-se fundamental para os sistemas de produção intensivos atuais, a fim de aumentar a produtividade e consequentemente lucratividade.

Os fenótipos de eficiência alimentar podem auxiliar no aumento da produtividade do sistema pecuário, por meio da seleção de reprodutores para a bovinocultura de corte. Estas características estão associadas diretamente com o aumento da produção de carne pela quantia de alimento oferecido (Nkrumah et al., 2006; Hegarty et al., 2007; Arthur e Herd, 2008; Capper e Hayes, 2012; Gerber et al., 2013; Robinson et al., 2016). Em vista disso, a seleção de animais eficientes reduz a demanda de alimento por indivíduo, além de mitigar o impacto gerado pela produção de bovinos e diminuir o intervalo de geração, consequentemente, poderá aumentar o progresso genético para essa característica. Dessa forma, a adoção dessas tecnologias pode resultar em benefícios econômicos, produtivos e sustentáveis (Waghorn e Hegarty, 2011; Freetly e Brown-Brandl, 2013; Salleh et al., 2017).

Diversos índices são utilizados como alternativas para a seleção para eficiência alimentar e podem ser ponderados de forma indireta pelo consumo alimentar residual (CAR, kg MS/dia). O CAR é definido como resíduo obtido da diferença do consumo alimentar observado e o predito (Koch et al., 1963). Deste modo, os animais mais eficientes expressam valores de consumo observado menor que o predito e são classificados com CAR negativo e o inverso ocorre com animais de CAR positivo (Basarab et al., 2003).

O CAR é pouco aproveitado como critério de seleção em programas de melhoramento genético para bovinos, em função da complexidade das características analisadas. Estas características são controladas por inúmeros processos biológicos, reguladas por um grande número de genes e, diferentes fatores ambientais (Capper e Hayes, 2012; Oliveira et al., 2014; Widmann et



al., 2015; Tizioto et al., 2016; Tapio et al., 2017; Wallace et al., 2017). Além disso, existe a dificuldade de registrar o consumo individual, devido aos custos com mão de obra especializada e equipamentos (Williams, 2010).

Apesar das limitações apresentadas, pesquisas recentes com bovinos demonstraram resultados importantes para a eficiência alimentar por meio de novas ferramentas biotecnológicas desenvolvidas, chamadas “ômicas”, como a metabolômica (Karisa et al., 2014; Shabat et al., 2016; Clemmons et al., 2017). Karisa et al. (2014) e Clemmons et al. (2017) em experimentos com bovinos Angus confinados relataram metabólitos sanguíneos associados ao CAR. Novais et al. (2019) identificaram assinatura molecular associada a eficiência alimentar em bovinos Nelore, com base na metabolômica não direcionada, indicando a via do metabolismo da vitamina A como precursora importante do CAR.

Contudo, a dificuldade de avaliar as ômicas, se deve em parte aos procedimentos invasivos necessários nos animais participantes de testes de eficiência alimentar. Ainda neste contexto, a análise das fezes se torna útil na caracterização de metabólitos e na identificação de biomarcadores associados ao consumo alimentar residual. Deste modo, a junção de informações do fenótipo consumo alimentar residual e metabólitos das fezes de touros Gir ainda não foram realizadas, e se torna necessária no intuito de contribuir com a seleção de reprodutores.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais

O experimento foi realizado no Centro de Inovação em Genética e Nutrição Animal (CIGNA), localizado na Fazenda Experimental Lageado, pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, SP, situado a 22°53'09” de latitude sul e 48°26'42” de longitude oeste, em sistema de baias coletivas equipadas com cochos eletrônicos da empresa Intergado® (Intergado Ltda., Contagem, Minas Gerais, Brasil).

Foram utilizados 20 touros da raça Gir com idade média de 11 meses (\pm 330 dias), provenientes de propriedades situadas nos Estados de São Paulo, Mato Grosso do Sul e Minas, participantes da Associação Brasileira dos Criadores de Gir (ASSOGIR) e do Programa Nacional de Fomento e Melhoramento Genético para Produção de Carne da Raça Gir (CARNEGIR).

O teste de eficiência alimentar teve início no mês de setembro e término em novembro de 2020. Os animais foram submetidos ao período de adaptação à dieta/instalações por 21 dias e posteriormente submetidos ao teste propriamente dito por 56 dias, com acesso *ad libitum* à dieta e água. No início e final da prova, amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal de



cada bovino, imergidas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer -80 °C para os ensaios de metabólica. Os animais que apresentaram problemas locomotores e/ou sanitários foram excluídos das avaliações.

A dieta fornecida foi formulada no *software Large Ruminant Nutrition System* v.1.0.3.3 (LRNS) (Tabela 1) e ofertada duas vezes ao dia, às 08:00h e 16:00h. Semanalmente até o final do experimento, amostras da dieta foram secas em estufas com ventilação forçada à temperatura de 55 °C por 72h e moídas em moinhos tipo *Willey* (peneiras com malhas de 1mm). Posteriormente, foram levadas à estufa por 24 horas a 105 °C para determinação da matéria seca (AOAC, 1995).

Tabela 1. Composição percentual dos ingredientes e nutrientes da dieta.

	% Matéria seca
Ingredientes	
Silagem de milho	27,58
Bagaço de cana	04,89
Milho grão úmido	44,64
Farelo de amendoim	08,01
Polpa cítrica	11,94
Ureia	01,16
Premix ¹	01,78
Nutrientes²	
Matéria seca, %	60,00
Proteína bruta, %	15,60
Nutrientes digestíveis totais, %	77,00
Energia metabolizável, Mcal/kg MS	02,77
Energia líquida de manutenção, Mcal/kg MS	01,84
Energia líquida de ganho, Mcal/kg MS	01,20
Fibra detergente neutro, %	26,90
Carboidratos não fibrosos, %	54,00
Extrato etéreo, %	03,20
Cálcio, %	00,60
Fósforo, %	00,38

¹ Composição do premix (kg do produto) 170g Ca, 20g P, 26g Mg, 120g Na, 30g S, 16mg Co, 834mg Cu, 40mg I, 1530mg Mn, 8mg Se, 2276mg Zn, 83333UI Vitamina A, 10.333UI Vitamina D, 266UI Vitamina E, 1.000mg Monensina.

² Valores calculados pelo BCNRM (*Nutrient Requirements of Beef Cattle*) 2016.

2.2 Fenótipos de eficiência alimentar

2.2.1 Consumo de matéria seca

O consumo de matéria seca (CMS, kg/dia) foi calculado multiplicando-se o consumo individual pela porcentagem de matéria seca (MS, %) da dieta total, para registro automático do consumo alimentar diário individual.



2.2.2 Ganho de peso diário

Os animais foram pesados diariamente por intermédio das balanças VW 1000 (Intergado Ltda., Contagem, Minas Gerais, Brasil) instaladas em frente aos bebedouros. Assim, o ganho de peso diários (GPD, kg/dia) foi calculado utilizando a diferença entre o peso vivo final (PVF, kg) e inicial (PVI, kg) em função dos dias em teste (DT):

$$Y_i = \alpha + \beta * DT_i + e_i$$

Onde:

Y_i é o peso do animal na i-ésima observação;

α é o intercepto, que representa o peso vivo inicial (kg);

β é o coeficiente de regressão linear, que representa o GPD;

DT_i é os dias em teste na i-ésima observação;

e_i é o erro aleatório associado a cada observação.

2.2.3 Peso vivo metabólico

A caracterização do peso vivo foi realizada por meio do peso vivo metabólico (PVM, kg) que leva em consideração a taxa metabólica basal, definida como a energia mínima necessária para manter o animal vivo com determinado peso:

$$PVM_i = [\alpha + (0,5 * DT_i * GPD_i)]^{0,75}$$

PVM_i é o peso vivo metabólico do teste do i-ésimo animal;

α é o intercepto, que representa o peso vivo inicial (kg);

DT_i é os dias em teste na i-ésima observação;

GPD_i é o ganho de peso diário do i-ésimo animal.

2.2.4 Consumo alimentar residual

O consumo alimentar residual (CAR, kg MS/dia) foi calculado por meio da regressão fenotípica do *CMS* em *GPD* e *PVM*, por intermédio do procedimento PROC GLM (SAS Institute, Cary, NC, USA, 2011), conforme Crews (2005), com inclusão do efeito de baia.

$$CMS = \beta_0 + \beta_1(GPD) + \beta_2(PVM) + CAR$$

Onde:

CMS_i é o consumo de matéria seca predita para cada animal i ;



β_0 é intercepto da regressão;

β_1 é coeficiente de regressão parcial sobre *GPD*;

β_2 é coeficiente de regressão parcial sobre *PVM*;

CAR é o consumo alimentar residual de acordo com Koch et al. (1963) do animal *i*.

2.3 Metabolômica

2.3.1 Extração dos metabólitos

Aproximadamente 300 mg de fezes de cada animal foram homogeneizadas, no início e final do teste de eficiência alimentar, com o tampão de fosfato de sódio em óxido de deutério (0,10 M, pH 7,4) contendo 0,050% de 3-trimetilsilil-2,2,3,3-d4-propionato de sódio de padrão químico de deslocamento interno (TMSP-d4, SigmaAldrich). Os homogeneizados foram centrifugados a 13.000 xg por 10 min a 4 °C e um volume conhecido do sobrenadante foi coletado e transferido para novo microtubo de 2 mL. O volume de 600 µL de sobrenadante: óxido de deutério (3:1 vol/vol) foi adicionado em tubo de RMN de 5 mm.

2.3.2 Aquisição dos espectros por ¹H RMN

Os espectros por ¹HRMN foram adquiridos a 298 K em espectrômetro de 14 T Bruker Avance III (Bruker BioSpin, Alemanha) equipado com cabeça de sonda PABBO de 5 mm. Primeiramente um protocolo foi estabelecido para as amostras de controle de qualidade (CQ) constituída por um pool de alíquotas dos extratos metabólicos de fezes (pulso de 90° calibrado e irradiação na frequência da água), e então este protocolo foi realizado em modo totalmente automático usando a rotina Bruker (carga, sintonia automática, travamento, fase, shimming, aquisição e processo) por interface ICON-NMR (Bruker Biospin, Rheinstetten, Germany). Os espectros foram adquiridos para próton RMN utilizando pulso de 90 ° (sequência zg), 64 K data points, com largura espectral de 20,0276 ppm e tempo de aquisição d1 de 2,726 s. Foram adquiridos um ganho de 225, um atraso de reciclagem de 1 seg (delay), varredura de 0 (scans) e um acúmulo de ns = 16 transients.

A supressão da água foi obtida pela sequência de pulsos denominada 1D NOESY (Bruker 1D noesygprr1d), utilizando os mesmos dados, largura espectral e tempo de aquisição dos experimentos com irradiação na frequência da água (O1 em torno de 2821,41 Hz dependendo do CQ), com ganho de receptor de 64, atraso de reciclagem de 4 s (delay), varreduras de 4 (scans), acúmulo de ns = 256 transients e tempo de mistura de 0,005 s. Os FIDs foram multiplicados por função de multiplicação



exponencial de 0,3 Hz antes da transformação de Fourier, somente uma correção de fase de ordem zero foi permitida, e o sinal de TMSP-d4 foi calibrado em $\delta = 0,00$ ppm.

Os experimentos de RMN bidimensional com as aquisições J-resolved (JRES) RMN, ^1H - ^{13}C HSQC e ^1H - ^1H COSY foram realizados em amostras selecionadas. Além disso, a identificação dos metabólitos foi realizada por meio do programa Chenomx NMR Suite 8.2 (Chenomx, Edmonton, Canada) e a quantificação será realizada em relação ao experimento de sinal ERETIC (Electronic Reference To Access Concentrações In Vivo), obtidos no padrão de sacarose (Bruker) com ganho de receptor para as amostras.

2.3.3 Processamento de dados

Os dados de ^1H RMN (600 MHz) obtidos (espectros completos) foram agrupados (*binning*) a cada 0,04 ppm. Em seguida, foram transformados em matriz de dados, usando o programa MNova da MestReLab Research (www.mestrec.com). Os dados foram analisados na plataforma MetaboAnalyst 5.0 (<http://www.metaboanalyst.ca/faces/home.xhtml>) por meio de análise de componentes principais (PCA), análise discriminante parcial dos mínimos quadrados (PLS-DA) e importância variável na projeção (VIP score), no intuito de identificar os metabólitos diferencialmente expressos ($p < 0,05$), conforme método proposto por Xia et al. (2009) e Xia et al. (2011).

A análise das vias metabólicas foi realizada utilizando o banco de dados da espécie *Bos taurus*. A identificação e visualização de diferentes atuações das vias metabólicas foram baseadas no KEGG PATHWAY Database (<http://www.genome.jp/kegg/>). A importância dos metabólitos que compõem a via metabólica foi calculada por meio das medidas de centralidade (grau de centralidade e interação com o centro) e foi mensurado o número de conexões da via de interesse com outras vias e suas distâncias. O impacto das vias metabólicas foi calculado por meio da soma das medidas de importância de cada metabólito e posteriormente por meio da soma de importância de todos os metabólitos em cada via.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises das amostras das fezes de touros da raça Gir (*Bos taurus indicus*) por ^1H RMN identificaram 58 metabólitos, sendo 36,21% ácidos orgânicos, 29,31% aminoácidos, 6,90% álcool, aminas e nucleotídeos/purinas/pirimidinas, 5,17% cetonas, 3,45% açúcares e compostos organoheterocíclicos, e 1,72% benzenoídes (Tabela 2).

Tabela 2. Descrição dos metabólitos das fezes de touros Gir.



METABÓLITOS	ID^a
<i>Ácido orgânico derivado</i>	
2-Hidroxiisovalerato	HMDB01149
2-Hidroxivalerato	HMDB00450
3-Hidroxifenilacetato	HMDB00039
3-Hidroxiisobutirato	HMDB00042
Acetato	HMDB00087
Acetoacetato	HMDB0304256
Butirato	HMDB00131
Citrato	HMDB01525
Fenilacetato	HMDB00892
Formato	HMDB00863
Fumarato	HMDB0031257
Isobutirato	HMDB00164
Isovalerato	HMDB00237
Lactato	HMDB00243
Malonato	HMDB0251386
N-acetilcisteína	HMDB0255066
Pantotenato	HMDB0303204
Piruvato	HMDB00292
Propionato	HMDB00883
Succinato	HMDB01149
Valerato	HMDB00161
<i>Açúcar</i>	
Glicose	HMDB00718
Maltose	HMDB0260296
<i>Álcool</i>	
Etanol	HMDB00172
Glicerol	HMDB00190
Isopropanol	HMDB00209
Metanol	HMDB00254
<i>Amina</i>	
Cadaverina	HMDB00123
Dimetilamina	HMDB01873
Metilamina	HMDB01878
N-acetilglucosamina	HMDB0244379
<i>Aminoácido</i>	
Alanina	HMDB00142
Glicina	HMDB00687
Glutamato	HMDB0250171



Histidina	HMDB00182
Isoleucina	HMDB00812
Leucina	HMDB00283
Lisina	HMDB00271
Metionina	HMDB00167
Ornitina	HMDB0000214
Prolina	HMDB0029113
Sarcosina	HMDB00020
β-alanina	HMDB02322
Taurina	HMDB0000251
Tiramina	HMDB0000306
Tirosina	HMDB0006050
Treonina	HMDB00450
Valina	HMDB00517
<i>Benzenoíde</i>	
4-Hidroxi-3-Metoximandelato	HMDB0000291
<i>Cetona</i>	
Acetona	HMDB00108
Colina	HMDB00157
N-nitrosodimetilamina	HMDB0031419
<i>Composto organoheterocíclico</i>	
Imidazol	HMDB00696
1,3-Dihidroxiacetona	HMDB00020
<i>Nucleotídeo/Purina/Pirimidina</i>	
Cafeína	HMDB00177
Hipoxantina	HMDB01875
Uracil	HMDB01659
Xantina	HMDB00039

^aID Human Metabolome Database (HMDB, <http://www.hmdb.ca>).

Logo, é possível analisar diferentes categorias de compostos constituintes de processos metabólicos essenciais afim de demonstrar e distinguir critérios de seleção para animais eficientes e não eficientes. A porcentagem (36,21%) majoritária de ácidos orgânicos, por exemplo, pode indicar uma maior eficiência de vacas leiteiras conforme Shabat et al., (2016), devido ao maior aproveitamento da energia proveniente das plantas (LIANG et al., 2016), visto que os principais produtos da fermentação ruminal são os ácidos graxos de cadeia curta (acetato, propionato e butirato), os quais atendem aproximadamente 70% das necessidades energéticas do bovino (SEYMOUR et al., 2005).



Apesar da ausência de quantificação dos metabólitos apresentados na tabela acima (Tabela 2), estudos demonstram efeitos de determinados compostos como a glicose, que quando encontrada em concentrações elevadas, tende a prejudicar as células espermáticas em sequência de uma baixa manutenção da mobilidade e suporte no processo de balanço iônico (INSKEEP E HAMMERSTEDT, 1983).

Conforme Klemesrud et al., (2000), a presença de lisina influencia no ganho médio diário (GMD) de novilhos da raça Nelore, tornando-os mais eficientes quando comparados aos animais com menor concentração da mesma.

4. CONCLUSÃO

Os dados deste projeto permitiram identificar biomarcadores com o objetivo de auxiliar no processo de seleção para a eficiência alimentar, através de diferentes metabólitos presentes nas fezes de touros da raça Gir. Contudo, novas pesquisas são necessárias para confirmar e integrar informações referentes ao comportamento do perfil metabolômico das fezes de reprodutores.

5. AGRADECIMENTOS

Agradeço a FAPESP pela bolsa concedida, a orientação da Prof^a Dra. Lenira El Faro Zadra, a colaboração do Prof. Dr. Josineudson Augusto Il de Vasconcelos da Silva, do Me. Matheus Henrique Vargas de Oliveira e da Dra. Jessica Moraes Malheiros. Por fim, agradeço aos meus familiares e amigos, em especial, ao meu pai, Antônio Iwamoto Sercundes.

6. REFERÊNCIAS

Arthur JPF, Herd RM (2008) Residual feed intake in beef cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia** 37:269-279.

Basarab JA, Price MA, Aalhus JL, Okine EK, Snelling WM, Lyle KL (2003) Residual feed intake and body composition in young growing cattle. **Canadian Journal of Animal Science** 83:189-204.

Capper JL, Hayes DJ (2012) The environmental and economic impact of removing growth-enhancing technologies from U.S beef production. **Journal of Animal Science** 90:3527-3537.

Carvalho ME, Gasparin G, Poleti MD, Rosa AF, Balieiro JCC, Labate CA, Nassu RT, Tullio RR, Regitano LCA, Mourão GB, Coutinho LL (2014) Heat shock and structural proteins associated with meat tenderness in Nellore beef cattle, a Bos indicus breed. **Meat Science** 96:1318-1324.



Clemmons BA, Mihelic RI, Beckford RC, Powers JB, Melchior EA, McFarlane ZD, Cope ER, Embree MM, Mulliniks JT, Campagna SR, Voy BH, Myer PR (2017) Serum metabolites associated with feed efficiency in black angus steers. **Metabolomics** 13:147.

Cônsolo NRB, Gardinal R, Gandra JR, Freitas Júnior JE, Rennó FP, Santana MHA, Pflanzner JSB, Pereira ASC (2015) High levels of whole raw soybean in diets for Nelore bulls in feedlot: effect on growth performance, carcass traits and meat quality. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition** 99:201-209.

Crews DH (2005) Genetics of efficient feed utilization and national cattle evaluation: A review. **Genetics and Molecular Research** 4:152-165.

Freetly HC, Brown- Brandl TM (2013) Enteric methane production from beef cattle that vary in feed efficiency. **Journal of Animal Science** 91:4826–4831.

Hegarty RS, Goopy JP, Herd RM, Mc Corkell B (2007) Cattle selected for lower residual feed intake have reduced daily methane production. **Journal of Animal Science** 85:1479-1486.

Karisa BK, Thomson J, Wang Z, Montanholi YR, Miller SP, Moore SS, Plastow GS (2014) **Plasma metabolites associated with residual feed intake and other productivity performance traits in beef cattle.** *Livestock Science* 165:200-211.

Koch RM, Swiger LA, Chambers D, Gregory KE (1963) Efficiency of feed use in beef cattle. **Journal of Animal Science** 22:486-494.

Nkrumah JD, Okine EK, Mathinson GW, Schmid K, Li C, Basarab JA, Price MA, Wang Z, Moore SS (2006) Relationships of feedlot feed efficiency, performance, and feeding behavior with metabolic rate, methane production, and energy partitioning in beef cattle. **Journal of Animal Science** 84:145-153.

Novais FJ, Pires PRL, Alexandre PA, Dromms RA, Iglesias AH, Ferraz JBS, Styczynski MPW, Fukumasu H (2019) Identification of a metabolomic signature associated with feed efficiency in beef cattle. **BMC Genomics** 20:8.

Oliveira PSN, Cesar ASM, Nascimento ML, Chaves AS, Tizioto PC, Tullio RR; Lanna DPD, Rosa AN, Sonstegard TS, Mourao GB, Reecy JM, Garrick DJ, Mudadu MA, Coutinho LL, Regitano LCA (2014) **Identification of genomic regions associated with feed efficiency in Nelore cattle.** *BMC Genetics* 15:100.

Robinson DL, Cameron M, Donaldson AJ, Dominik S, Oddy VH (2016) One-hour portable chamber methane measurements are repeatable and provide useful information on feed intake and efficiency. **Journal of Animal Science**, 94:4376-4387.

Rosa, Antonio N. et al. Recursos genéticos em gado de corte. **EMBRAPA**, [s. l.], 23 out. 2014.



Salleh MS, Mazzoni G, Höglund JK, Olijhoek DW, Lund P, Lovendahl P, Kadarmideen HN (2017) RNA-Seq transcriptomics and pathway analyses reveal potential regulatory genes and molecular mechanisms in high- and low-residual feed intake in Nordic dairy cattle. **BMC Genomics** 18:258-275.

SHABAT, S. K. B. et al. **Specific microbiome-dependent mechanisms underlie the energy harvest efficiency of ruminants**. The ISME Journal, v. 10, n. 12, p. 2958–2972, dez. 2016.

Tapio I, Snelling TJ, Strozzi F, Wallace RJ (2017) The ruminal microbiome associated with methane emissions from ruminant livestock. **Journal of Animal Science and Biotechnology** 8:1-11.

Tizioto PC, Coutinho LL, Oliveira PSN, Cesar ASM, Diniz WJS, Lima AO, Rocha MI, Decker JE, Schnabel RD, Mourão GB, Tullio RR, Zerlotini-Neto A, Taylor JF, Regitano LCA (2016) Gene expression differences in Longissimus muscle of Nelore steers genetically divergent for residual feed intake. **Scientific Reports** 6:1-12.

USDA (2021) **Livestock and Poultry: World Markets and Trade**. United States Department of Agriculture: Foreign Agricultural Service, 16 p.

Wallace RJ, Snelling TJ, McCartney CA, Tapio I, Strozzi F (2017) Application of meta-omics techniques to understand greenhouse gas emissions originating from ruminal metabolism. **Genetic Selection Evolution** 49:9-20.

Williams CB (2010) Application of biological simulation models in estimating feed efficiency of finishing steers. **Journal of Animal Science** 88:2523-2529.

Widmann P, Reverter A, Weikard R, Suhre K, Hammon HM, Albrecht E, Kuehn C (2015) Systems biology analysis merging phenotype, metabolomics and genomic data identifies non-SMC condensing I complex, subunit G (NCAPG) and cellular maintenance processes as major contributors to genetic variability in bovine feed efficiency. **Plos One** 10:0124574.

XIA, Jianguo et al. MetaboAnalyst: a web server for metabolomic data analysis and interpretation. **Nucleic acids research**, v. 37, n. suppl_2, p. W652-W660, 2009.