



RUTH CCALTA HANCCO

**EFEITOS DO TAMANHO DE PARTÍCULA NA QUALIDADE
DA CARNE BOVINA E LIPOGÊNESE EM NOVILHAS
NELORE EM TERMINAÇÃO**

LAVRAS-MG

2024

RUTH CCALTA HANCCO

**EFEITOS DO TAMANHO DE PARTICULA NA QUALIDADE DA CARNE BOVINA
E LIPOGÊNESE EM NOVILHAS NELORE EM TERMINAÇÃO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Ruminantes, para a obtenção do título de Doutor.

Prof Dr. Marcio Machado Ladeira

Orientador

Prof Dr. Thiago Fernandes Bernardes

Coorientador

LAVRAS-MG

2024

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da
Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Ccalta, Hanco Ruth.

Efeitos do tamanho de partícula na qualidade da carne
bovina e lipogênese em novilhas neloreem terminação” / Hanco
Ruth Ccalta. - 2024.

50 p.

Orientador(a): Marcio Machado Ladeira.

Coorientador(a): Thiago Fernandes Bernardes.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2024.

Bibliografia.

1. FDNe. 2. Marmoreio. 3. Tamanho de partícula. I. Ladeira,
Marcio Machado. II. Bernardes, Thiago Fernandes. III. Título.

RUTH CCALTA HANCCO

**EFEITOS DO TAMANHO DE PARTICULA NA QUALIDADE DA CARNE BOVINA
E LIPOGÊNESE EM NOVILHAS NELORE EM TERMINAÇÃO**

**EFFECTS OF PARTICLE SIZE ON MEAT QUALITY AND LIPOGENESIS IN
FINISHING NELLORE HEIFERS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de atuação em Nutrição e Produção de Ruminantes, para obtenção do título de Doutor

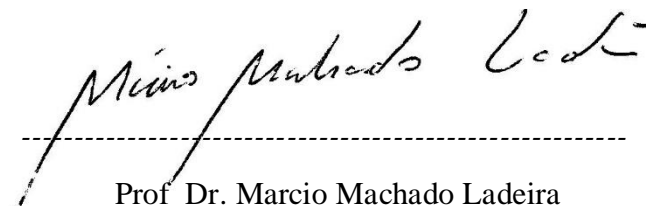
APROVADA em 20 de junho de 2024.

Dr. Daniel Rume Casagrande - DZO/UFLA

Dra. Tathyane Ramalho Santos Gionbelli- DZO/UFLA

Dr. Mario Luiz Chizzotti -DZO/UFV

Dr. Ronaldo Lopes Oliveira- DZO/UFBA



Prof Dr. Marcio Machado Ladeira

Orientador

Prof Dr. Thiago Fernandes Bernardes

Coorientador

Pablo Julián Ccalta Ccalta, que simboliza perseverancia y la fortaleza, guía fundamental en mi camino hacia mi formación académica. Te amo Papa

Lucía Hanco Pallara es un ejemplo de sacrificio, fe y dulzura en mi vida. Te amo Mama.

A mis ocho hermanos, les agradezco por representar el amor incondicional y la unidad familiar. Su apoyo, oraciones y compañía virtual han sido fundamentales durante este periodo, brindándome fuerza y consuelo en los momentos difíciles.

Pablo Julián Ccalta Ccalta, que representa a perseverança e a fortaleza, guia fundamental em meu caminho em direção à minha formação acadêmica. Eu te amo, Pai.

Lucía Hanco Pallara é um exemplo de sacrifício, fé e doçura em minha vida. Eu te amo, Mãe.

Aos meus oito irmãos, agradeço por representarem o amor incondicional e a união familiar. Seu apoio, orações e companhia virtual têm sido fundamentais durante este período, proporcionando-me força e conforto nos momentos difíceis

“Mas uma coisa faço esquecendo-me das coisas que atrás ficam, e avançando para as que estão diante de mim” Filipenses 3:13

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me guardar e cuidar todos os dias da minha vida, por Sua presença constante e por me conceder força e orientação.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, sou grato pela oportunidade de aprendizado e crescimento durante esses três anos. O ambiente acadêmico proporcionou um espaço de desenvolvimento intelectual e profissional, e sou grato por fazer parte dessa instituição.

Agradeço ao CNPq pelo suporte financeiro fornecido ao longo desse período de estudos. Sua contribuição foi fundamental para que eu pudesse me dedicar integralmente à pesquisa.

Ao Núcleo de Estudos em Pecuária de Corte (NEPEC), expresso minha gratidão pelo apoio e ensinamentos recebidos durante essa jornada. A colaboração e troca de conhecimento com os membros do NEPEC foram enriquecedoras e contribuíram para o meu crescimento acadêmico

Agradeço ao professor Márcio Machado Ladeira pela oportunidade de fazer parte de sua equipe de pesquisa e pela sua infinita paciência ao me orientar. Sua orientação e expertise foram essenciais para o desenvolvimento do meu trabalho.

Ao professor Thiago Bernardes e aos orientados, agradeço pelo apoio e por me permitirem fazer parte do projeto de pesquisa.

À Luana por tua amizade incondicional e paciência. Obrigada por me ajudar durante minha qualificação, por me aconselhar e ouvir, você é uma pessoa que aprecio muito.

A professora Priscila pela paciência e apoio durante minha redação de tese. Sua orientação foi fundamental para a conclusão do meu trabalho.

O Jose Oliveira, obrigada por me auxiliar durante meu experimento, pelo apoio na minha qualificação e redação de tese. Sua ajuda foi essencial e sou grata pela sua colaboração.

Ao Dr. Hernan Cucho Dolmos pelos ensinamentos e me direcionar neste caminho da pesquisa. Sempre lembro das suas palavras de encorajamento antes de me candidatar às bolsas de estudo no mestrado e doutorado. "Não se perde nada tentando, Ruth!"

Aos meus professores da graduação Dr. Enrique Ampuero, Dr. Walter Antezana, Cesar Ordonez, obrigada por ser parte deste caminho acadêmico e acreditar em mim.

À professora Pilar Hernandez, sou grato por despertar em mim o interesse pela linha de pesquisa em qualidade de carne. Sua orientação e conhecimento foram fundamentais para a minha escolha e desenvolvimento nessa área.

A Fabiola, pela paciência e me ensinar permanecer na fé. Obrigada por me suster em oração dia após dia.

Às minhas amigas Leticia, Rayane, Sara, Lusiane, Edna, Marcela e Carol pela amizade e momentos bonitos compartilhados ao longo dessa jornada.

Agradeço à Diana Rebaza pelos conselhos e pela amizade sincera. “Duas peruanas em busca de conhecimento”.

A você, por seu cuidado, paciência e encorajamento dia após dia para continuar nesta longa e desgastante etapa. Desejo que você ganhe essa loteria e, com esse dinheiro, me convide apenas uma ‘marmitta’ e que nunca falte um bom café a cada manhã para continuar dia a dia nesta vida. Muito obrigada por tudo.

À minha família na fé em Lavras, Nelson, Rosângela, Valdeci, Cida, Sander, Lidia Pego e Leandro, agradeço pelo amor, cuidado e companhia ao longo desse tempo. Sua presença tem sido uma fonte constante de encorajamento e força espiritual

Agradeço à igreja em Cusco por cada oração, encorajamento e apoio ao longo destes quatro anos, que me permitiram finalizar esta jornada. Agradeço também a cada membro que se tornou meus pais, irmãos e irmãs na fé. Amo muito cada um de vocês e estão sempre em meu coração.

Muito obrigada

"A perseverança são os caminhos que nos levam a conquistar os mais altos níveis de saber."

(Ruth Ccalta)

RESUMO

Dietas com alto teor de amido podem aumentar a fermentação, causando queda no pH ruminal. A redução do pH pode alterar a biohidrogenação, o que pode afetar negativamente o conteúdo da gordura intramuscular por meio da redução na expressão genes envolvidos com a lipogênese. Portanto, este estudo teve o objetivo de avaliar o efeito do tamanho de partícula de silagem de milho sobre a qualidade de carne e expressão de genes em novilhas Nelore terminadas em confinamento. Noventa e quatro novilhas Nelore ($249,71 \pm 34,62$ kg de peso corporal) foram distribuídas em 32 baias (três animais por baia), em um delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos e 16 repetições. Os tratamentos foram: silagem de milho com partícula de 13 mm (curta) e silagem de milho com tamanho de partícula de 24 mm (longa). O período de confinamento teve duração de 101 dias, sendo os primeiros 15 dias de adaptação às dietas. Após o abate foram retiradas amostras do músculo *longissimus thoracis* (LT) da meia-carcaça esquerda na altura da 13ª costela para análises de qualidade de carne e expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico. Além disso, foram coletadas amostras de fígado para avaliar a expressão de genes envolvidos nas vias da gliconeogênese. Não houve efeito do tratamento sobre os teores de colágeno, umidade e matéria mineral ($P > 0,10$), porém o músculo de novilhas alimentadas com partícula curta tendeu apresentar maior teor proteína ($P = 0,098$), enquanto que o músculo de novilhas alimentadas com partícula longa apresentou maior teor de gordura ($P = 0,05$). Não houve efeito de tratamento e interação partícula \times tempo de maturação sobre a qualidade de carne ($P > 0,10$). Porém, houve efeito de tempo de maturação sobre os parâmetros de qualidade de carne ($P < 0,05$). Para expressão gênica do fígado, as novilhas alimentadas com o tamanho de partícula curta apresentaram maior expressão dos genes *PC* enquanto que *PEPCK2* apresentou maior expressão novilhas alimentadas com partícula longa ($P < 0,05$). O tamanho de partícula em silagem de milho longa aumentou a expressão de *PPARA* ($P = 0,001$) e não houve das dietas sobre os genes *PPARG* e *SREBF1* entre tratamentos ($P > 0,05$). A expressão dos genes *LPL*, *FABP4*, *SCD1*, *CPT2* ($P = < 0,001$) e *ACACA* ($P = 0,017$) aumentaram no musculo das novilhas alimentadas com tamanho de partícula longa. Conclui-se, portanto, que o uso de silagem de milho com tamanho de partícula longa em dietas de bovinos de corte em confinamento tem o potencial para aumentar a gordura intramuscular da carne e a expressão de genes envolvidos na lipogênese.

Palavras-chave:FDNe; genes; marmoreio; tamanho de partícula ; turnover lipídico.

ABSTRACT

Diets high in starch content may increase fermentation, causing a decrease in ruminal pH. The reduction in pH can alter biohydrogenation, which may negatively affect intramuscular fat content through a reduction in the expression of genes involved in lipogenesis. Therefore, this study aimed to evaluate the effect of corn silage particle size on beef quality and lipogenic genes expression in Nellore heifers finished in feedlot. Ninety-four Nellore heifers (249.71 ± 34.62 kg body weight) were distributed in 32 pens (three animals per pen) in a completely randomized design with two treatments and 16 replications. The treatments were: corn silage with 13 mm fiber (short) and corn silage with 24 mm fiber size (long). The feedlot period lasted 101 days, with the first 15 days for diet adaptation. After slaughter, samples were taken from the longissimus thoracis muscle (LT) of the left half-carcass at the height of the 13th rib for beef quality and expression of genes involved in lipid metabolism. In addition, liver biopsy has been done to evaluate expression of genes involved in the gluconeogenesis pathways. There was no treatment effect on collagen, moisture, and mineral content ($P > 0.10$), but the muscle of heifers fed short particle tended to have higher protein content ($P = 0.098$), while the muscle of heifers fed long particle had higher fat content ($P = 0.05$). There was no treatment effect and fiber \times maturation time interaction on beef quality ($P > 0.10$). However, there was a maturation time effect on beef quality parameters ($P < 0.05$). For liver gene expression, heifers fed short particle size showed higher expression of *PC* genes while *PEPCK2* showed higher expression in heifers fed with long particle ($P < 0.05$). The particle size in long corn silage increased the expression of *PPARA* genes ($P = 0.001$), and there was no effect of diets on *PPARG* and *SREBF1* genes between treatments ($P > 0.05$). The expression of *LPL*, *FABP4*, *SCD1*, *CPT2* ($P = < 0.001$), and *ACACA* genes ($P = 0.017$) increased in the muscle of heifers fed with long fiber size. Therefore, it is concluded that the use of long particle size corn silage in feedlot beef cattle diets has the potential to increase intramuscular fat in beef and the expression of genes involved in lipogenesis.

Keywords: NDFi; genes; marbling; particle size; lipid turnover;

INDICADORES DE IMPACTO

Este trabalho investigou os efeitos inclusão de diferentes tamanhos de partículas na silagem de milho nas dietas de novilhas Nelore em confinamento, visando entender os efeitos sobre a qualidade da carne e a expressão gênica envolvida no metabolismo lipídico e na gliconeogênese hepática. Resultados indicaram que dietas com partículas longas de silagem de milho aumentaram a deposição de gordura intramuscular e os níveis de glicose, além de elevar as concentrações de D-lactato. Embora não tenha havido diferenças significativas nos parâmetros de pH, força de cisalhamento, e coloração da carne entre os tratamentos, observou-se que o tempo de maturação afetou positivamente esses parâmetros, independentemente do tamanho da partícula. Esses achados sugerem que a manipulação do tamanho das partículas na dieta pode ser uma estratégia viável para melhorar a qualidade da carne bovina, especificamente em relação ao teor de gordura intramuscular, sem comprometer outras características importantes da carne. A pesquisa contribui para um melhor entendimento das práticas de manejo nutricional no confinamento de bovinos de corte, com potencial para impactar a indústria da carne ao promover produtos de maior qualidade e valor agregado. Além disso, os resultados ressaltam a importância de considerar o tamanho das partículas na formulação de dietas, não só para otimizar o desempenho animal, mas também para atender às exigências do mercado por carnes com maior marmoreio.

IMPACTS INDICATORS

This study investigated the effects of including different particle sizes in corn silage on the diets of confined Nelore heifers, aiming to understand the impacts on meat quality and the gene expression involved in lipid metabolism and hepatic gluconeogenesis. Results indicated that diets with larger corn silage particles increased intramuscular fat deposition and glucose levels, as well as elevated D-lactate concentrations. Although there were no significant differences in pH, shear force, and meat color parameters between treatments, it was observed that the aging time positively affected these parameters regardless of particle size. These findings suggest that manipulating particle size in the diet could be a viable strategy to improve beef quality, particularly in terms of intramuscular fat content, without compromising other important meat characteristics. The research contributes to a better understanding of nutritional management practices in beef cattle feedlots, with the potential to impact the meat industry by promoting higher quality and value-added products. Additionally, the results highlight the importance of considering particle size in diet formulation, not only to optimize animal performance but also to meet market demands for beef with higher marbling.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. D-Lactato nas novilhas Nelore alimentadas com diferentes tamanhos de partícula de silagem de milho.	49
Figura 2. Glicose plasmático nas novilhas Nelore alimentadas com diferentes tamanhos de partícula de silagem de milho.	49

LISTA TABELAS

Tabela 1. Proporção de ingredientes nas dietas do período de adaptação e dieta final.	45
Tabela 2. Composição química (% MS) e distribuição de partículas das dietas experimentais	45
Tabela 3.. Sequência (5' para 3') e eficiência dos primers que foram usados na PCR quantitativa em tempo real.....	46
Tabela 4. Composição química (%) da carne de novilhas alimentadas com diferentes tamanhos de partícula de silagem de milho.	48
Tabela 5. Características da qualidade de carne de novilhas alimentadas com diferentes tamanhos de partícula de silagem de milho em diferentes dias de maturação.	48

LISTA DE ABREVIATURAS

ACACA - Acetil-CoA Carboxilase Alfa

ACTB - Actina Beta

AGV - Ácidos Graxos Voláteis

AGL - Ácidos Graxos Livres

CD36 - Translocase de Ácido Graxo

cDNA - DNA Complementar

CLA - Ácido Linoleico Conjugado

CPT2 - Carnitina Palmitoiltransferase II

FASN - Ácido Graxo Sintase

FATP - Proteína de Transporte de Ácido Graxo

FABP - Proteína de Ligação de Ácido Graxo

FABP4 - Proteína de Ligação de Ácidos Graxos 4

FC - Força de Cisalhamento

FDN - Fibra Detergente Neutro

FDNe - Fator de Digestibilidade de Fibra em Detergente Neutro efetiva

GAPDH - Gliceraldeído-3-Fosfato Desidrogenase

LPL - Lipoproteína Lipase

LT - Músculo Longissimus Thoracis

MS - Matéria Seca

PC - Peso Corporal

PPARG - Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxisomas Gama

PPARA - Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxisomas Alfa

PPC - Perda de Peso por Cozimento

PSPS - Pen State Particle Separator

PUFA - Ácidos Graxos Poli-insaturados

qPCR - Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real

RNA - Ácido Ribonucleico

SCD1 - Esteroil-CoA Desaturase 1

SPM - Silagem de Partícula de Milho

SREBF1 - Fator de Transcrição de Ligação de Elemento Regulador de Esterol 1

TAG - Triacilglicerídeos

O efeito do tamanho de partícula de silagem de milho sobre qualidade de carne e expressão de genes em novilhas Nelore terminadas em confinamento. Elaborado por **Ruth Ccalta Hanco** e orientado por **Marcio Machado Ladeira**



O estudo teve o objetivo de avaliar o efeito do tamanho de partícula de silagem de milho sobre a qualidade de carne e expressão de genes em novilhas Nelore terminadas em confinamento. Noventa e quatro novilhas Nelore ($249,71 \pm 34,62$ kg de peso corporal) foram distribuídas em 32 baias (três animais por baia), em um delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos e 16 repetições. Os tratamentos foram: silagem de milho com fibra de 13 mm (curta) e silagem de milho com tamanho de fibra de 24 mm (longa). O período de confinamento teve duração de 101 dias, sendo os primeiros 15 dias de adaptação às dietas. Após o abate foram retiradas amostras do músculo longissimus thoracis (LT) da meia-carcaça esquerda na altura da 13ª costela para análises de qualidade de carne e expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico. Além disso, foram coletadas amostras de fígado para avaliar a expressão de genes envolvidos nas vias da gliconeogênese. Conclui-se, portanto, que o uso de silagem de milho com tamanho de partícula longa em dietas de bovinos de corte em confinamento tem o potencial para aumentar a gordura intramuscular da carne e a expressão de genes envolvidos na lipogênese.

SUMÁRIO

PRIMEIRO CAPÍTULO	15
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1. Tamanho de partícula do volumoso, pH ruminal e marmoreio	16
2.2. Turnover lipídico: captação, sínteses e oxidação.	18
REFERÊNCIAS	24
SEGUNDO CAPÍTULO – ARTIGO	33
Resumo	33
1.1. Introdução	33
1.3. Resultados	38
1.4. Discussão	39
1.5 Conclusão	42
1.6 Referências	42

PRIMEIRO CAPÍTULO

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os confinamentos brasileiros utilizam em média uma proporção de 66% de grãos nas dietas de confinamento (SILVESTRE; MILLEN, 2021), sendo o amido o maior componente e o que fornece maior teor de energia para os animais em terminação. Espera-se que animais recebendo essas dietas apresentem maior eficiência alimentar (VAN CLEEF *et al.*, 2021), e maior gordura intramuscular (WOOD *et al.*, 2008; PARK *et al.*, 2018) devido ao maior teor energético da dieta. Porém, a utilização de dietas com alto teor de amido, pode aumentar a fermentação ruminal, acumulando ácidos graxos voláteis (AGV) e outros ácidos orgânicos como o lactato, o que resulta em diminuição do pH ruminal (OWENS *et al.*, 1998), e pode prejudicar o desempenho dos animais e/ou desencadear distúrbios metabólicos (NAGARAJA; LECHTENBERG, 2007).

A redução do pH ruminal pode resultar em alteração significativa nas vias da biohidrogenação ruminal de ácidos graxos, que pode afetar negativamente a deposição de gordura de intramuscular (JENKINS; HARVATINE, 2014). De acordo com estudo de Teixeira *et al.* (2017), uma alteração na rota da biohidrogenação devido ao baixo pH ruminal aumenta a síntese do CLA C18:2 *trans10-cis12*, que por sua vez reduz a expressão do gene *SREBF1* (*Fator de transcrição de ligação de elemento regulador de esterol 1*) desencadeando redução na síntese de lipídeos, o que pode reduzir a deposição de gordura intramuscular.

Diante disso, a inclusão de partícula efetiva (FDN_e) na dieta de bovinos pode ser estratégia importante para evitar problemas decorrentes da diminuição do pH ruminal (ZEBELI *et al.*, 2012). De acordo com Mertens (1997), está relacionada às características físicas da partícula, como o tamanho de partícula e a concentração química de partícula em detergente neutro (FDN). A presença de FDN_e na dieta é crucial para estimular a mastigação e a ruminação dos animais, tendo efeito benéfico no tamponamento salivar, na formação do "mat" ruminal (camada fibrosa que flutua no líquido ruminal) e no equilíbrio ruminal. Esses processos ajudam a manter o pH ruminal dentro de faixas ideais e minimizar a ocorrência de acidose ruminal (ZEBELI *et al.*, 2012; WEISS *et al.*, 2017).

O tamanho de partícula pode estar totalmente relacionado com a sua efetividade, ou seja, aumentar o tamanho de suas partículas pode garantir um bom funcionamento do rúmen (WEISS *et al.*, 2017). Deste modo, a hipótese deste trabalho é que o tamanho de partícula

longa aumentaria o conteúdo de gordura intramuscular, melhorando qualidade de carne, por aumentar a expressão de genes lipogênicos em novilhas Nelore terminadas em confinamento. Para isso objetivou-se avaliar o efeito de tamanho de partícula de silagem de milho sobre a qualidade de carne e expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico de novilhas Nelore terminadas em confinamento.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Tamanho de partícula do volumoso, pH ruminal e marmoreio

Nos últimos anos, têm sido utilizadas nos confinamentos brasileiros, dietas com maior proporção de alimentos concentrados. De acordo com Silvestre e Millen (2021), a maioria dessas dietas, possui nível de inclusão de concentrado representando cerca de 97,2% da dieta, sendo o amido o maior componente e o que fornece maior quantidade de energia líquida para os bovinos em terminação. Dietas com maior concentração energética permitem obter maior eficiência de uso da energia para ganho, melhorando o desempenho dos animais (CAETANO *et al.*, 2019; VAN CLEEF *et al.*, 2021), e aumentando a concentração de marmoreio na carne (WOOD *et al.*, 2008).

No entanto, a inclusão de alta porcentagem de carboidratos rapidamente fermentáveis (especialmente amido) pode levar a uma rápida fermentação ruminal e acúmulo de produtos finais da fermentação (AGVs), causando queda no pH ruminal, podendo causar distúrbios metabólicos e algumas disfunções, como alterações nos padrões de alimentação e ruminação, e principalmente redução no consumo de matéria seca (OWENS *et al.*, 1998; NAGARAJA; LECHTENBERG, 2007; GENTRY *et al.*, 2016). Adicionalmente, essa queda do pH ruminal pode alterar a rota da biohidrogenação de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) (JENKINS; HARVATINE, 2014), aumentando a concentração do ácido linoleico conjugado o C18:2 *trans-10, cis-12* e, conseqüentemente, reduzindo a síntese de gordura intramuscular, uma vez que C18:2 *trans-10, cis-12* inibe a expressão do fator de transcrição *SREBF1*. Essa redução do *SREBF1* é responsável por diminuir a lipogênese por reduzir a expressão dos genes acetil-coA carboxilase (*ACACA*) e ácido graxo sintase (*FASN*) no músculo, reduzindo a síntese de novo (TEIXEIRA *et al.*, 2017).

Diante disso, 80,56% dos nutricionistas de confinamento ressaltam a importância da inclusão da partícula efetiva na formulação de dietas de alto concentrado para bovinos de corte em confinamento (SILVESTRE; MILLEN, 2021), a fim de prevenir os distúrbios digestivos e queda no marmoreio (ZEBELI *et al.*, 2012; JENKINS; HARVATINE, 2014). O conceito de FDN_e foi introduzido por Mertens (1997), estando relacionado ao tamanho de

partícula do alimento, o que influencia a atividade mastigatória e estratificação do conteúdo ruminal. Desta forma, a atividade mastigatória leva a formação de duas camadas, uma na parte superior do rúmen, a qual contém partículas grosseiras de alimento e é denominada de “mat” ruminal; e na parte inferior, encontra-se a fase líquida com partículas de menor tamanho (MERTENS, 1997). A importância da estratificação ruminal está relacionada à aderência dos microrganismos às partículas de alimento, especialmente as partículas mais grosseiras e de menor densidade. A adesão dos microrganismos é crucial para a degradação do alimento no rúmen (ALLEN, 1997).

Inicialmente a estimativa da fração de FDN_e seguia a premissa de que o tamanho mínimo de partícula para que um alimento passasse do rúmen-retículo para omaso era de 1,18mm (MERTENS, 1997). Com base nisso, recomendações para estimar o fator de efetividade foram estabelecidas utilizando o conjunto de três peneiras, denominado “Pen State Particle Separator” (PSPS), com os crivos de 19, 8, e 1,18 mm (KONONOFF; HEINRICHS, 2003). No entanto, estudos subsequentes, como os Maulfair, McIntyre e Heinrichs (2013), constataram a presença de partículas de tamanho acima de 1,18mm nas digestas omasais. Em vista disso, Heinrichs (2013) e NASEM (2016), sugeriram que o tamanho de partícula ideal para estimar o FDN_e para bovinos de corte seria de < 4mm.

As médias de FDN_e utilizadas nas dietas dos confinamentos brasileiros estão em torno de 14,3%, enquanto, que o teor de fibra detergente neutro (FDN) seria de 21,8% (SILVESTRE; MILLEN, 2021). Mertens (2002) trabalhando com bovinos de corte, recomenda uma inclusão de 15% de FDN_e (base de MS) na dieta. Porém outros autores recomendam o uso de 7 a 10,4% de FDN_e para dietas de terminação, a fim de manter um pH ruminal em torno de 5,6-5,8 (FOX; TEDESCHI, 2002; LLONCH; CASTILLEJOS; FERRET, 2020).

Diversos estudos mostram que ao tamanho de partícula longa tem a capacidade de estimular a mastigação e ruminação, e conseqüentemente a produção de saliva, que atua na manutenção de um ambiente favorável à microbiota ruminal em relação ao tamanho de partícula pequena em vacas leiteiras (BEAUCHEMIN; YANG; RODE, 2003; YANG; BEAUCHEMIN, 2006b; YANG; BEAUCHEMIN, 2007; ZEBELI *et al.*, 2012), e em bovinos de corte (WEISS *et al.*, 2017; LLONCH; CASTILLEJOS; FERRET, 2020).

Porém, ainda há controvérsias em relação ao tamanho de partícula e seu efeito sobre a secreção salivar e o pH ruminal. Alguns estudos (YANG; BEAUCHEMIN, 2007; WEISS *et al.*, 2017) mostram que o aumento do tamanho de partícula promove uma maior estimulação da mastigação, o que leva a uma maior secreção salivar e, conseqüentemente, a um aumento

do pH ruminal. No entanto, outros trabalhos (KONONOFF; HEINRICHS, 2003; BEAUCHEMIN, 2018) sugerem uma relação menos clara entre o tamanho de partícula e a atividade mastigatória e o pH ruminal. Esses estudos indicaram que a ingestão do tamanho de partícula pode ter uma influência limitada sobre esses parâmetros.

Segundo Krause et al. (2002) o tamanho de partícula curta de silagem de milho pode diminuir a porcentagem de gordura do leite, uma vez que poderia ser menos efetiva para o rúmen, o que permitiria uma queda do pH ruminal (KONONOFF; HEINRICHS, 2003), reduzindo a síntese de gordura. Yang; Beauchemin (2006a) avaliando vacas leiteiras alimentadas com silagem de milho com diferentes tamanhos de partículas (longo= 28,8mm, meio=15,9mm e curto=4,8mm), encontraram um aumento linear na produção de leite com os tamanhos maiores (longo e meio), sem afetar a composição química do leite. Pereira *et al.*, (2021) avaliando novilhos mestiços alimentados com silagem de cevada com diferentes tamanhos de partícula, observou que o tratamento com o tamanho de partícula longa (10% de MS na dieta) apresentou maior pontuação de marmoreio em relação silagem de cevada de tamanho de partícula curto com uma proporção de (5% de MS na dieta). Esse efeito pode ser devido ao fato de que a partícula curta tenha menos efetiva no rúmen, causando uma queda do pH (KONONOFF; HEINRICHS, 2003), influenciando os isômeros da biohidrogenação, especialmente o C18:2 *trans-10, cis-12*, reduzindo a expressão dos genes lipogênicos e conseqüentemente, reduzindo a deposição de gordura intramuscular (TEIXEIRA *et al.*, 2017; PEREIRA *et al.*, 2021).

2.2. Turnover lipídico: captação, sínteses e oxidação.

A gordura intramuscular conhecida como marmoreio, desempenha um papel importante na qualidade sensorial da carne, contribuindo para sua maciez, sabor e suculência (DU *et al.*, 2010; PARK *et al.*, 2018). A concentração de gordura intramuscular na carne é influenciada por vários fatores como: raça, sexo, genética, idade e nutrição (NGUYEN; NGUYEN; MALAU-ADULI, 2021; LONDOÑO-GIL *et al.*, 2022). O acúmulo da gordura intramuscular tende a aumentar significativamente após a puberdade e até a maturidade sexual do animal, enquanto o desenvolvimento muscular segue uma tendência inversa, diminuindo nesse mesmo período (PETHICK; HARPER; ODDY, 2004; DU *et al.*, 2013).

A deposição intramuscular em bovinos adultos resulta do balanço entre a captação, síntese e degradação dos ácidos graxos, sendo esses processos regulados por atividade enzimática e controlados por mecanismos transcricionais e traducionais (LADEIRA *et al.*, 2018).

2.2.1. Captação de ácidos graxos

A captação de lipídios envolve um procedimento no qual células ou tecidos extraem lipídios, do ambiente circundante ou do fluxo sanguíneo, para utilizá-los como fonte de energia, reserva ou para outros propósitos metabólicos (BAUCHART, 1993).

Os ácidos graxos e uma pequena quantidade de triacilglicerídeos (TAG) que escapam do rúmen e chegam ao intestino delgado, sofrem ação de lipases e proteínas carreadoras específicas (quilomícrons) até a sua absorção no intestino e posterior deposição nos tecidos. Ao chegarem aos adipócitos, a lipoproteína lipase (LPL) quebra os quilomícrons, liberando ácidos graxos livres (AGL) e glicerol (WANG; ECKEL, 2009). A LPL está presente em diferentes tecidos, incluindo coração, músculo, tecido adiposo, pulmão, cérebro e rim, no entanto, a sua expressão é mais acentuada no músculo esquelético e no tecido adiposo, devido seu papel importante no metabolismo lipídico (WEINSTOCK *et al.*, 1997).

A entrada dos AGL no adipócito, após ação da *LPL*, exige processos específicos ou transportadores, que facilitam a entrada destas moléculas. Há três grupos de transportadores de ácidos graxos: a translocase de ácido graxo (CD36), proteína de ligação ao ácido graxo (FABP) ou proteína de transporte ao ácido graxo (FATP) (LADEIRA *et al.*, 2018). Além disso, Teixeira *et al.* (2017) mostrou que a *FABP4* está correlacionada positivamente com a *LPL*, o que mostra que são enzimas complementares.

2.2.2. Síntese de novo

A síntese *de novo* refere-se ao processo de criação ou produção de moléculas complexas a partir de componentes mais simples, muitas vezes envolvendo reações químicas ou bioquímica (ROLLIN *et al.*, 2003). Para a síntese de novo é necessário unidades de acetil coA, que podem ser oriundos do acetato ou glicose. De acordo com Smith e Crouse (1984), utilizando-se de uma técnica *in vitro*, encontraram que no tecido intramuscular, o acetato é responsável por fornecer de 10% a 25% das unidades de acetil-CoA, enquanto a glicose contribui com 50% a 75%. Por outro lado, nos adipócitos subcutâneos, a glicose contribui com 1% a 10% das unidades de acetil-CoA, e o acetato fornece com 70% a 80% dessas unidades. Já Smith *et al.* (2018) revelaram que a glicose contribui com uma proporção significativamente de unidades de acetil para a síntese de novos ácidos graxos, porém o acetato é o maior precursor para síntese de lipídeos nos tecidos adiposos intramuscular e subcutâneo, investigação *in vitro*. Por conseguinte, sugerem que em dietas ricas em cereais, a glicose contribui uma parte para a proporção de unidades de acetil na biossíntese de ácidos graxos, em comparação com a contribuição do acetato nos tecidos adiposos intramuscular e subcutâneo.

O acetato (ácido graxo volátil produzido a partir da fermentação ruminal) é absorvido pelo epitélio ruminal e distribuído para os tecidos periféricos. No tecido adiposo é convertido em acetil-CoA através da ação da enzima acetil-CoA sintase (FUJINO *et al.*, 2001). A glicose, por sua vez, é gerada a partir da gliconeogênese, podendo ser derivada do propionato (ácido graxo volátil produzido a partir da fermentação ruminal), aminoácidos e lactato (HARMON *et al.*, 1985). Normalmente dietas com alta porcentagem de grãos aumentam a produção de propionato, o que poderia aumentar a deposição de gordura intramuscular, devido maior ação gliconeogênica e insulínogênica (PARK *et al.*, 2018; JEONG *et al.*, 2022).

A gliconeogênese hepática em ruminantes tem como principal substrato o propionato, que fornece aproximadamente 90% da glicose produzida (REYNOLDS *et al.*, 1988). O propionato é convertido em oxaloacetato (OAA) mitocondrial por meio das enzimas propionil-CoA carboxilase e metilmalonil-CoA mutase (MCM) (ASCHEBACH *et al.*, 2010). Além disso, O OAA também faz parte do ciclo do ácido tricarbóxico (TCA) mitocondrial. Por outro lado, o lactato é transformado em piruvato, pela ação lactato desidrogenase o qual, por sua vez, é convertido em OAA pela ação da enzima piruvato carboxilase (PC) presente na mitocôndria. O OAA (oriundo do propionato e lactato) é convertido em fosfoenolpiruvato (PEP) pela ação da enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK) (ASCHEBACH *et al.*, 2010). Nesse processo a conversão de piruvato para fosfoenolpiruvato é realizado pela ação das enzimas piruvato carboxilase (PC) e fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK). O PEPCK pode encontrar-se em duas isomorfias como a *PEPCK1* e *PEPCK2*, responsáveis pela regulação da gliconeogênese no fígado. Na mitocôndria o PC responsável pela conversão do piruvato para oxalacetato, por sua vez, é convertido em PEP pela ação da enzima *PEPCK2*. (ASCHEBACH *et al.*, 2010). Nos ruminantes, no fígado a porcentagem de atuação total da atividade do PEPCK é representada 50:50 tanto pelo *PEPCK1* e *PEPCK2* respectivamente (AGCA *et al.*, 2003). Por outro lado, a disponibilidade do lactato a entrada de lactato na via gliconeogênese pode ser regulada pela atividade da enzima de PC, *PEPCK2* na mitocôndria. (WATFORD *et al.*, 1982).

Para produção do acetil-CoA, a partir da glicose, sintetizada na gliconeogênese, primeiro é necessário que a glicose entra na via glicolítica produzindo piruvato. Seguido, o piruvato é transportado para a mitocôndria, onde sofre descarboxilação em acetil -CoA (LADEIRA *et al.*, 2016). Como a lipogênese acontece no citosol, o acetil -CoA é condensado

com o oxaloacetato, formando citrato. Em seguida, o citrato é transportado no citosol, onde é quebrado, resultando em oxaloacetato e acetil-CoA (LADEIRA *et al.*, 2016).

Após a síntese do acetil coA (oriundo do acetato e/ou glicose), o primeiro passo da síntese de novo é realizado pela acetil coA-carboxilase, codificada pelo gene *ACACA*. Essa enzima catalisa e carboxila o acetil-CoA em malonil-CoA, sendo intermediário importante para a síntese de ácidos graxos. Em seguida, o complexo multienzimático chamado de ácido graxo sintase (*FASN*) começa a desempenhar a sua função, ao ativar a síntese de ácido graxo saturado (AGS) de cadeia longa, a partir do acetil-CoA, malonil-CoA e NADPH (SMITH; WITKOWSKI; JOSHI, 2003).

Posteriormente, os ácidos graxos sintetizando (síntese de novo) ou oriundos da captação podem sofrer ação da enzima estearoil-CoA dessaturase (*SCD1*) (LADEIRA *et al.*, 2016a). A *SCD1* é uma enzima responsável pela conversão dos ácidos graxos saturados a monoinsaturados, sendo enzima chave para produção do CLA cis -9, trans -11 no músculo (BARTOŇ *et al.*, 2010).

2.2.3. Oxidação de lipídeos

A oxidação de lipídios é um processo bioquímico no qual os ácidos graxos presentes nos lipídios são utilizados para produzir energia. No processo de lipólise, os TAGs são quebrados liberando ácidos graxos livres e glicero. Os ácidos graxos livres, portanto, são transportados através da membrana interna da mitocôndria, para serem oxidados na via de β -oxidação. A entrada dos ácidos graxos é realizada pelo sistema carnitina palmitoil transferase (CPT), responsável pelo transporte dos ácidos graxos do citosol para dentro da mitocôndria. Os ácidos graxos entram na mitocôndria pela ação da enzima carnitina palmitoil transferase 1 (*CPT1*). Dentro da mitocôndria, a enzima carnitina palmitoil transferase 2 (*CPT2*) transforma a acilcarnitina de cadeia longa novamente em acil-CoA de cadeia longa, liberando acil-CoA de cadeia longa para entrar na via de β -oxidação e produzir ATP (LADEIRA *et al.*, 2016).

Além da via da β -oxidação dos ácidos graxos na matriz mitocondrial, a oxidação dos ácidos graxos também pode ocorrer no peroxissomas, especialmente em ruminantes. Nos peroxissomas, a acil-CoA oxidase 1 (*ACOX1*) está associada na oxidação dos ácidos graxos de cadeia longa (GUZMÁN *et al.*, 1999; ANGELI *et al.*, 2019).

De forma geral, aumento da lipogênese, captação de ácidos graxos e diminuição da oxidação pode estar associada à maior deposição de gordura intramuscular. Teixeira *et al.* (2017) encontraram que tourinhos Nelore alimentados a base de milho moído e silagem de milho, apresentaram uma maior expressão de genes relacionados à síntese (*ACACA* e *SCD1*)

e captação (*FABP4* e *LPL*). Porém, também foi observada uma maior expressão de genes de degradação (*CPT2*), o que levou a uma menor concentração de gordura intramuscular nesses animais.

2.2.4. Fatores de transcrição

A regulação da síntese, captação e oxidação da gordura intramuscular envolve a atuação de vários fatores de transcrição, sendo especialmente influenciada pelas famílias de receptores ativados por proliferadores de peroxissomas (*PPARs*) e pelas proteínas que se ligam a elementos reguladores de esteróis (*SREBP*).

A família dos fatores de transcrição (*PPAR*) atuam como mediador do metabolismo lipídico e homeostases energéticas (LEMAY; HWANG, 2006). Os *PPAR* funcionam como heterodímeros com receptor X de retinóide (*RXR*), em que os dois juntos se ligam a uma sequência específica de DNA na região promotora do gene controlando a expressão deste. Os *PPARs* pertencem à família de receptores nucleares do fator de transcrição, sendo identificados três principais isomorfias: *PPARA*, *PPAR β/δ* e *PPARG* (KERSTEN; Â ATRICE DESVERGNE; WAHLI, 2000).

O *PPARA* tem expressão mais acentuada no tecido adiposo marrom, fígado, rins, coração e músculo esquelético. Enquanto, o *PPAR β/δ* possui maior expressão no intestino, rins e coração, porém pode-se encontrar em vários tecidos e *PPARG* tem maior afinidade especificamente no tecido adiposo e fígado (KERSTEN, ATRICE; AND; WAHLI, 1999). O *PPARA* é responsável pela sínteses de ácidos graxos, especificamente de ácidos graxos insaturados. Além disso, está envolvido na regulação da oxidação de ácidos graxos de cadeia longa nos tecidos (BIONAZ; THERING; LOOR, 2012).

Já o *PPARG* está associado com a adipogênese e lipogênese (URRUTIA; ALFONSO; MENDIZABAL, 2018; WEI *et al.*, 2019). Além disso, o *PPARG* é responsável especificamente pela expressão de genes de *FABP* e *LPL* (GARIN-SHKOLNIK *et al.*, 2014). Estudos em bovinos castrados têm demonstrado correlação positiva entre o *PPARG* e os genes *ACACA*, *FABP4*, *FASN*, *LPL* e *SCD* (SANTIAGO *et al.*, 2023).

Outro fator de transcrição importante é o *SREBP* que está associado a homeostase energética, e promovendo glicólise, adipogênese e lipogênese (EBERLÉ *et al.*, 2004; LADEIRA *et al.*, 2016; SHIMANO; SATO, 2017). Existem três membros da família *SREBP*: *SREBP-1a*, *SREBP-1c* e *SREBP-2*, cada um cumpre diferentes papéis nas sínteses de lipídeos. O *SREBP-1c* desempenha um papel particular na regulação das lipogêneses, especificamente na ativação da expressão do gene *ACACA* (OLIVEIRA; MILLEN, 2014). De acordo com Teixeira *et al.* (2017) o fator de transcrição *SREBF1* possui correlação

positiva com os genes envolvidos nas sínteses de lipídeos, incluindo *ACACA* e *SCDI*. Nesse sentido um estudo avaliando animais alimentados com dietas ricas em ácidos graxos poli-insaturados n-3 (PUFA) protegidos, encontrou uma redução na expressão do *SREBP-1c*, resultando em menor a expressão dos genes *ACACA* e *SCDI*, o que pode ter impacto na lipogênese e na deposição de gordura intramuscular (HILLER; HERDMANN; NUERNBERG, 2011).

A composição da dieta, especialmente a proporção de (grãos ou/ volumoso), pode influenciar a expressão do *SREBF1*. Em ruminantes, dietas com alto teor de concentrado de grãos podem levar a queda do pH ruminal, alterando a rotas da biohidrogenação, causando o aumento na formação do CLA C18:2 trans -10, cis -12, e levando a supressão da expressão do *SREBF1* e, conseqüentemente, a uma redução na deposição de gordura intramuscular (TEIXEIRA *et al.*, 2017).

REFERÊNCIAS

AGCA, C.; GREENFIELD, R. B.; HARTWELL, J. R.; DONKIN, S. S. Cloning and characterization of bovine cytosolic and mitochondrial PEPCK during transition to lactation. **Physiological Genomics**, v.11, n.14, p. 53–63, 2003.

ALLEN, M. S. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. **Journal of dairy science**, v.80, n.7, p. 1447–1462, 1997.

ANGELI, E.; TRIONFINI, V.; GAREIS, N. C.; MATILLER, V.; HUBER, E.; REY, F.; SALVETTI, N. R.; ORTEGA, H. H.; HEIN, G. J. Protein and gene expression of relevant enzymes and nuclear receptor of hepatic lipid metabolism in grazing dairy cattle during the transition period. **Research in Veterinary Science**, v. 123, p. 223–231, 1 abr. 2019.

AROEIRA, C. N.; TORRES FILHO, R. A.; FONTES, P. R.; GOMIDE, L. A. M.; RAMOS, A. L. S.; LADEIRA, M. M.; RAMOS, E. M. Freezing, thawing and aging effects on beef tenderness from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. **Meat Science**, v. 116, p. 118–125, 1 jun. 2016.

ASCHENBACH, J. R.; KRISTENSEN, N. B.; DONKIN, S. S.; HAMMON, H. M.; PENNER, G. B. Gluconeogenesis in dairy cows: the secret of making sweet milk from sour dough. **IUBMB life**, v. 62, n. 12, p. 869–877, dez. 2010.

ATRICE, B. É.; AND, D.; WAHLI, W. Peroxisome Proliferator-Activated Receptors: Nuclear Control of Metabolism. **Endocrine Reviews**, v. 20, n. 5, p. 649–688, 1 out. 1999.

BARTOŇ, L.; KOTT, T.; BUREŠ, D.; ŘEHÁK, D.; ZAHŘÁDKOVÁ, R.; KOTTOVÁ, B. The polymorphisms of stearoyl-CoA desaturase (SCD1) and sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1) genes and their association with the fatty acid profile of muscle and subcutaneous fat in Fleckvieh bulls. **Meat Science**, v. 85, n. 1, p. 15–20, 1 maio 2010.

BEAUCHEMIN, K. A. Invited review: Current perspectives on eating and rumination activity in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 6, p. 4762–4784, 1 jun. 2018.

BEAUCHEMIN, K. A.; YANG, W. Z.; RODE, L. M. Effects of particle size of alfalfa-based dairy cow diets on chewing activity, ruminant fermentation, and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 2, p. 630–643, 2003.

BHAT, Z. F.; MORTON, J. D.; MASON, S. L.; BEKHIT, A. E. D. A. Role of calpain system in meat tenderness: A review. **Food Science and Human Wellness**, v. 7, n. 3, p. 196–204, 1 set. 2018.

BIONAZ, M.; CHEN, S.; KHAN, M. J.; LOOR, J. J. Functional Role of PPARs in Ruminants: Potential Targets for Fine-Tuning Metabolism during Growth and Lactation. **PPAR research**, v. 2013, 2013.

BIONAZ, M.; THERING, B. J.; LOOR, J. J. Fine metabolic regulation in ruminants via nutrient-gene interactions: Saturated long-chain fatty acids increase expression of genes involved in lipid metabolism and immune response partly through PPAR- α activation. **British Journal of Nutrition**, v. 107, n. 2, p. 179–191, 28 jan. 2012.

BLANCO, M.; RIPOLL, G.; DELAVAUD, C.; CASASÚS, I. Performance, carcass and meat quality of young bulls, steers and heifers slaughtered at a common body weight. **Livestock Science**, v. 240, n. June, p. 104156, 2020.

CAETANO, M.; GOULART, R. S.; RIZZO, P. M.; SILVA, S. L.; DROUILLARD, J. S.; LEME, P. R.; LANNA, D. P. D. Impact of flint corn processing method and dietary starch concentration on finishing performance of Nelore bulls. **Animal Feed Science and Technology**, v. 251, p. 166–175, 1 maio 2019.

DE OLIVEIRA MONTESCHIO, J.; DE SOUZA, K. A.; VITAL, A. C. P.; GUERRERO, A.; VALERO, M. V.; KEMPINSKI, E. M. B. C.; BARCELOS, V. C.; NASCIMENTO, K. F.; DO PRADO, I. N. Clove and rosemary essential oils and encapsulated active principles (eugenol, thymol and vanillin blend) on meat quality of feedlot-finished heifers. **Meat Science**, v. 130, p. 50–57, 1 ago. 2017.

DU, M.; HUANG, Y.; DAS, A. K.; YANG, Q.; DUARTE, M. S.; DODSON, M. V.; ZHU, M. J. MEAT SCIENCE AND MUSCLE BIOLOGY SYMPOSIUM: Manipulating mesenchymal progenitor cell differentiation to optimize performance and carcass value of beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 3, p. 1419–1427.

DU, M.; TONG, J.; ZHAO, J.; UNDERWOOD, K. R.; ZHU, M.; FORD, S. P.; NATHANIELSZ, P. W. Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals. **Journal of animal science**, v. 88, n. 13 Suppl, 2010.

EBERLÉ, D.; HEGARTY, B.; BOSSARD, P.; FERRÉ, P.; FOUFELLE, F. SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis. **Biochimie**, v. 86, n. 11, p. 839–848, 1 nov. 2004.

FERREIRA, M. S.; TOMAZ, L. A.; NIEHUES, M. B.; LADEIRA, M. M.; CURI, R. A.; CHARDULO, L. A.; BALDASSINI, W. A.; MARTINS, C. L.; ARRIGONI, M. B.; MACHADO NETO, O. R. The inclusion of de-oiled wet distillers grains in feedlot diets reduces the expression of lipogenic genes and fat content in Longissimus muscle from F1 Angus-Nelore cattle. **PeerJ**, v. 2019, n. 10, 2019

FOX, D. G.; TEDESCHI, L. O. Application of physically effective fiber in diets for feedlot cattle. **Proceedings of the plains nutrition**, 2002.

FUJINO, T.; KONDO, J.; ISHIKAWA, M.; MORIKAWA, K.; YAMAMOTO, T. T. Acetyl-CoA Synthetase 2, a Mitochondrial Matrix Enzyme Involved in the Oxidation of Acetate. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 14, p. 11420–11426, 6 abr. 2001.

GARIN-SHKOLNIK, T.; RUDICH, A.; HOTAMISLIGIL, G. S.; RUBINSTEIN, M. FABP4 Attenuates PPAR γ and Adipogenesis and Is Inversely Correlated With PPAR γ in Adipose Tissues. **Diabetes**, v. 63, n. 3, p. 900–911, 1 mar. 2014.

GENTRY, W. W.; WEISS, C. P.; MEREDITH, C. M.; MCCOLLUM, F. T.; COLE, N. A.; JENNINGS, J. S. Effects of roughage inclusion and particle size on performance and rumination behavior of finishing beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 11, p. 4759–4770, 1 nov. 2016..

GREENFIELD, R. B.; CECAVA, M. J.; DONKIN, S. S. Changes in mRNA Expression for Gluconeogenic Enzymes in Liver of Dairy Cattle During the Transition to Lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 6, p. 1228–1236, 1 jun. 2000.

GUI, L.; JIA, C.; ZHANG, Y.; ZHAO, C.; ZAN, L. Association studies on the bovine lipoprotein lipase gene polymorphism with growth and carcass quality traits in Qinchuan cattle. **Molecular and cellular probes**, v. 30, n. 2, p. 61–65, 1 abr. 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26806454/>>. Acesso em: 19 jun. 2023.

GUZMÁN, M.; KLEIN, W.; GÓMEZ DEL PULGAR, T.; GEELLEN, M. J. H. Metabolism of trans fatty acids by hepatocytes. **Lipids**, v. 34, n. 4, p. 381–386, 1999.

HARVATINE, K. J.; ROBBLEE, M. M.; THORN, S. R.; BOISCLAIR, Y. R.; BAUMAN, D. E. Trans-10, cis-12 CLA dose-dependently inhibits milk fat synthesis without disruption of lactation in C57BL/6J mice. **Journal of Nutrition**, v. 144, n. 12, p. 1928–1934, 2014.

HEINRICHS, J. The Penn State Particle Separator. **DSE - Penn State Extension**, v. 186, p. 1–8, 2013.

HILLER, B.; HERDMANN, A.; NUERNBERG, K. Dietary n-3 Fatty Acids Significantly Suppress Lipogenesis in Bovine Muscle and Adipose Tissue: A Functional Genomics Approach. **Lipids**, v. 46, n. 7, p. 557–567, jul. 2011.

HOASHI, S.; HINENOYA, T.; TANAKA, A.; OHSAKI, H.; SASAZAKI, S.; TANIGUCHI, M.; OYAMA, K.; MUKAI, F.; MANNEN, H. Association between fatty acid compositions and genotypes of FABP4 and LXR-alpha in Japanese black cattle. **BMC genetics**, v. 9, 11 dez. 2008.

HOOD, R. L.; ALLEN, C. E. Cellularity of bovine adipose tissue. **Journal of Lipid Research**, v. 14, n. 6, p. 605–610, 1 nov. 1973.

JAYASOORIYA, S. D.; TORLEY, P. J.; D'ARCY, B. R.; BHANDARI, B. R. Effect of high power ultrasound and ageing on the physical properties of bovine Semitendinosus and Longissimus muscles. **Meat science**, v. 75, n. 4, p. 628–639, abr. 2007.

JENKINS, T. C.; HARVATINE, K. J. Lipid Feeding and Milk Fat Depression. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 30, n. 3, p. 623–642, 1 nov. 2014.

JEONG, I.; NA, S. W.; KANG, H. J.; PARK, S. J.; JUNG, D. J. S.; BEAK, S. H.; LEE, J.; KIM, D. H.; KIM, H. J.; MALEKKHAHI, M.; RANAWEERA, K. K. T. N.; BAIK, M. Partial Substitution of Corn Grain in the Diet with Beet Pulp Reveals Increased Ruminal Acetate Proportion and Circulating Insulin Levels in Korean Cattle Steers. **Animals**, v. 12, n. 11, p. 1419, 1 jun. 2022.

JURIE, C.; CASSAR-MALEK, I.; BONNET, M.; LEROUX, C.; BAUCHART, D.; BOULESTEIX, P.; PETHICK, D. W.; HOCQUETTE, J. F. Adipocyte fatty acid-binding protein and mitochondrial enzyme activities in muscles as relevant indicators of marbling in cattle. **Journal of animal science**, v. 85, n. 10, p. 2660–2669, out. 2007.

KERSTEN, S.; Â ATRICE DESVERGNE, B.; WAHLI, W. Roles of PPARs in health and disease. **NATURE**, v. 405, 2000.

KHAN, M. I.; JUNG, S.; NAM, K. C.; JO, C. Postmortem Aging of Beef with a Special Reference to the Dry Aging. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, v. 36, n. 2, p. 159, 2016.

KONONOFF, P. J.; HEINRICHS, A. J. The Effect of Corn Silage Particle Size and Cottonseed Hulls on Cows in Early Lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 7, p. 2438–2451, 1 jul. 2003.

LADEIRA, M. M.; CARVALHO, J. R. R.; CHIZZOTTI, M. L.; TEIXEIRA, P. D.; DIAS, J. C. O.; GIONBELLI, T. R. S.; RODRIGUES, A. C.; OLIVEIRA, D. M. Effect of increasing levels of glycerin on growth rate, carcass traits and liver gluconeogenesis in young bulls. **Animal Feed Science and Technology**, v. 219, p. 241–248, 1 set. 2016a.

LADEIRA, M. M.; SCHOONMAKER, J. P.; GIONBELLI, M. P.; DIAS, J. C. O.; GIONBELLI, T. R. S.; CARVALHO, J. R. R.; TEIXEIRA, P. D. Nutrigenomics and Beef Quality: A Review about Lipogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 6, 10 jun. 2016b.

LADEIRA, M. M.; SCHOONMAKER, J. P.; SWANSON, K. C.; DUCKETT, S. K.; GIONBELLI, M. P.; RODRIGUES, L. M.; TEIXEIRA, P. D. Review: Nutrigenomics of marbling and fatty acid profile in ruminant meat. **animal**, v. 12, n. s2, p. s282–s294, 1 dez. 2018.

LEE, M. S.; APPLE, J. K.; YANCEY, J. W. S.; SAWYER, J. T.; JOHNSON, Z. B. Influence of wet-aging on bloom development in the longissimus thoracis. **Meat science**, v. 80, n. 3, p. 703–707, nov. 2008.

LEE, S.; DECKER, E. A.; FAUSTMAN, C.; MANCINI, R. A. The effects of antioxidant combinations on color and lipid oxidation in omega 3 oil fortified ground beef patties. **Meat Science**, v. 70, n. 4, p. 683–689, 1 ago. 2005.

LEMAY, D. G.; HWANG, D. H. Genome-wide identification of peroxisome proliferator response elements using integrated computational genomics. **Journal of Lipid Research**, v. 47, n. 7, p. 1583–1587, 1 jul. 2006.

LI, N.; ZHANG, Y.; LI, H. P.; HAN, L.; YAN, X. M.; LI, H. B.; DU, W.; ZHANG, J. S.; YU, Q. L. Differential expression of mRNA-miRNAs related to intramuscular fat content in the longissimus dorsi in Xinjiang brown cattle. **PloS one**, v. 13, n. 11, 1 nov. 2018.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. **Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method** 2001.

LLONCH, L.; CASTILLEJOS, L.; FERRET, A. Increasing the content of physically effective fiber in high-concentrate diets fed to beef heifers affects intake, sorting behavior, time spent ruminating, and rumen pH. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 6, 1 jun. 2020.

LONDOÑO-GIL, M.; CARDONA-CIFUENTES, D.; RODRÍGUEZ, J. D.; BRUNES, L. C.; MAGNABOSCO, C. U.; PEREIRA, A. S. C.; PERIPOLLI, E.; LÔBO, R. B.; BALDI,

- F. Heritability and genetic correlations between marbling in longissimus dorsi muscle and conventional economic traits in Nelore beef cattle. **Tropical animal health and production**, v. 54, n. 5, 1 out. 2022.
- MAULFAIR, D. D.; MCINTYRE, K. K.; HEINRICHS, A. J. Subacute ruminal acidosis and total mixed ration preference in lactating dairy cows¹. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 10, p. 6610–6620, 1 out. 2013.
- MERTENS, D. R. Creating a System for Meeting the Fiber Requirements of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1463–1481, 1 jul. 1997.
- MONTEIRO, P. A. M.; MACIEL, I. C. F.; ALVARENGA, R. C.; OLIVEIRA, A. L.; BARBOSA, F. A.; GUIMARÃES, S. T.; SOUZA, F. A.; LANNA, D. P. D.; RODRIGUES, B. M.; LOPES, L. S. Carcass traits, fatty acid profile of beef, and beef quality of Nelore and Angus x Nelore crossbred young bulls finished in a feedlot. **Livestock Science**, v. 256, p. 104829, 1 fev. 2022.
- MORGAN, J. B.; WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M.; CROUSE, J. D.; SAVELL, J. W. Effect of castration on myofibrillar protein turnover, endogenous proteinase activities, and muscle growth in bovine skeletal muscle. **Journal of Animal Science**, v. 71, n. 2, p. 408–414, 1 fev. 1993.
- NAGARAJA, T. G.; LECHTENBERG, K. F. Acidosis in Feedlot Cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 23, n. 2, p. 333–350, 1 jul. 2007.
- NASEM. **Nutrient Requeriments of Beef Cattle Handbook of Analysis of Active Compounds in Functional Foods**. 2016.
- NGUYEN, D. V.; NGUYEN, O. C.; MALAU-ADULI, A. E. O. Main regulatory factors of marbling level in beef cattle. **Veterinary and Animal Science**, v. 14, p. 100219, 1 dez. 2021.
- OBSER, T.; FAERGEMAN, N. J.; CHUNG, S.; MARTINEZ, K.; GOBERN, S.; LOREAU, O.; WABITSCH, M.; MANDRUP, S.; MCINTOSH, M. Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases de novo lipid synthesis in human adipocytes. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, n. 6, p. 580–590, 1 jun. 2012.
- OLIVEIRA, C. A.; MILLEN, D. D. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. **Animal Feed Science and Technology**, v. 197, p. 64–75, 1 nov. 2014.
- OWENS, F. N.; SECRIST, D. S.; HILL, W. J.; GILL, D. R. Acidosis in cattle: a review. **Journal of animal science**, v. 76, n. 1, p. 275–286, 1998.
- PARK, S. J.; BEAK, S. H.; JUNG, D. J. S.; KIM, S. Y.; JEONG, I. H.; PIAO, M. Y.; KANG, H. J.; FASSAH, D. M.; NA, S. W.; YOO, S. P.; BAIK, M. Genetic, management, and nutritional factors affecting intramuscular fat deposition in beef cattle - A review. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 31, n. 7, p. 1043–1061, 1 jul. 2018
- PEREIRA, M. C. S.; YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K. A.; MCALLISTER, T. A.; WOOD, K. M.; PENNER, G. B. Effect of silage source, physically effective neutral detergent fiber, and undigested neutral detergent fiber concentrations on performance and carcass characteristics of finishing steers. **Translational Animal Science**, v. 5, n. 1, 1 jan. 2021.
- PETHICK, D. W.; HARPER, G. S.; ODDY, V. H. Growth, development and nutritional manipulation of marbling in cattle: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 44, n. 7, p. 705–715, 2004

PITT, R. E.; VAN KESSEL, J. S.; FOX, D. G.; PELL, A. N.; BARRY, M. C.; VAN SOEST, P. J. Prediction of ruminal volatile fatty acids and pH within the net carbohydrate and protein system. **Journal of animal science**, v. 74, n. 1, p. 226–244, 1996.

POULSEN, L. la C.; SIERSBÆK, M.; MANDRUP, S. PPARs: fatty acid sensors controlling metabolism. **Seminars in cell & developmental biology**, v. 23, n. 6, p. 631–639, 2012.

RAMIREZ RAMIREZ, H. A.; HARVATINE, K. J.; KONONOFF, P. J. Short communication: Forage particle size and fat intake affect rumen passage, the fatty acid profile of milk, and milk fat production in dairy cows consuming dried distillers grains with solubles. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 1, p. 392–398, 1 jan. 2016.

RODRIGUES, V. C.; DE ANDRADE, I. F. **Chemical physical meat characteristics of buffaloes and cattle entire and castrated** *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2004.

SANTIAGO, B. M.; BALDASSINI, W. A.; CHIARATTI, M. R.; PANDEY, A. K.; TORRECILHAS, J. A.; TORRES, R. N. S.; RIBEIRO, R. V.; LANNA, D. P. D.; PEREIRA, G. L.; CURI, R. A.; CHARDULO, L. A. L.; MACHADO NETO, O. R. Skeletal muscle gene expression and meat quality of F1 Angus–Nelore young steers and bulls feedlot finished. **Livestock Science**, v. 268, p. 105151, 1 fev. 2023.

SHIMANO, H.; SATO, R. SREBP-regulated lipid metabolism: convergent physiology - divergent pathophysiology. **Nature reviews. Endocrinology**, v. 13, n. 12, p. 710–730, 1 dez. 2017.

SILVESTRE, A. M.; MILLEN, D. D. The 2019 Brazilian Survey On Nutritional Practices Provided By Feedlot Cattle Consulting Nutritionists. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 50, n. 2019, p. 1–25, 2021.

TEIXEIRA, P. D.; OLIVEIRA, D. M.; CHIZZOTTI, M. L.; CHALFUN-JUNIOR, A.; COELHO, T. C.; GIONBELLI, M. P.; PAIVA, L. V.; CARVALHO, J. R. R.; LADEIRA, M. M. Subspecies and diet affect the expression of genes involved in lipid metabolism and chemical composition of muscle in beef cattle. **Meat Science**, v. 133, p. 110–118, 1 nov. 2017.

URRUTIA, O.; ALFONSO, L.; MENDIZABAL, J. A. Cellularity Description of Adipose Depots in Domesticated Animals. **Adipose Tissue**, 2018.

VAN CLEEF, E. H. C. B.; DE OLIVEIRA, P. S. N.; GALATI, R. L.; FERREIRA, D. S.; SANTOS, V. C.; HOMEM JUNIOR, A. C.; PEREIRA JÚNIOR, S. A. G.; PARDO, R. M.

P.; EZEQUIEL, J. M. B. High-concentrate diets with fibrous by-products for feedlot Nelore heifers. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 93, n. 3, 2021.

VERNON, R. G. Lipid metabolism in the adipose tissue of ruminant animals. **Progress in Lipid Research**, v. 19, n. 1–2, p. 23–106, 1 jan. 1980.

VITALE, M.; PÉREZ-JUAN, M.; LLORET, E.; ARNAU, J.; REALINI, C. E. Effect of aging time in vacuum on tenderness, and color and lipid stability of beef from mature cows during display in high oxygen atmosphere package. **Meat Science**, v. 96, n. 1, p. 270–277, 1 jan. 2014.

WANG, H.; ECKEL, R. H. Lipoprotein lipase: From gene to obesity. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 297, n. 2, p. 271–288, ago. 2009.

WEI, X.; HAN, S.; WANG, S.; ZHENG, Q.; LI, X.; DU, J.; ZHAO, J.; LI, F.; MA, Y. ANGPTL8 regulates adipocytes differentiation and adipogenesis in bovine. **Gene**, v. 707, p. 93–99, 30 jul. 2019.

WEINSTOCK, P. H.; LEVAK-FRANK, S.; HUDGINS, L. C.; RADNER, H.; FRIEDMAN, J. M.; ZECHNER, R.; BRESLOW, J. L. Lipoprotein lipase controls fatty acid entry into adipose tissue, but fat mass is preserved by endogenous synthesis in mice deficient in adipose tissue lipoprotein lipase. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 94, n. 19, p. 10261–10266, 16 set. 1997.

WEISS, C. P.; GENTRY, W. W.; MEREDITH, C. M.; MEYER, B. E.; COLE, N. A.; TEDESCHI, L. O.; MCCOLLUM, F. T.; JENNINGS, J. S. Effects of roughage inclusion and particle size on digestion and ruminal fermentation characteristics of beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 4, p. 1707–1714, 2017.

WOOD, J. D.; ENSER, M.; FISHER, A. V.; NUTE, G. R.; SHEARD, P. R.; RICHARDSON, R. I.; HUGHES, S. I.; WHITTINGTON, F. M. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. **Meat science**, v. 78, n. 4, p. 343–358, abr. 2008.

YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K. A. Physically effective fiber: Method of determination and effects on chewing, ruminal acidosis, and digestion by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 7, p. 2618–2633, 2006a.

YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K. A. Effects of Physically Effective Fiber on Chewing Activity and Ruminal pH of Dairy Cows Fed Diets Based on Barley Silage. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 1, p. 217–228, 1 jan. 2006b.

YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K. A. Altering physically effective fiber intake through forage proportion and particle length: Chewing and ruminant pH. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 6, p. 2826–2838, 1 jun. 2007.

YIN, B. Z.; FANG, J. C.; ZHANG, J. S.; ZHANG, L. M.; XU, C.; XU, H.; SHAO, J.; XIA, G. J. Correlations between single nucleotide polymorphisms in FABP4 and meat quality and lipid metabolism gene expression in Yanbian yellow cattle. **PLoS ONE**, v. 15, n. 6 June, 1 jun. 2020.

ZEBELI, Q.; ASCHENBACH, J. R.; TAJAJ, M.; BOGUHN, J.; AMETAJ, B. N.; DROCHNER, W. Invited review: Role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3, p. 1041–1056, mar. 2012.

ZHANG, Q.; KOSER, S. L.; DONKIN, S. S. Identification of promoter response elements that mediate propionate induction of bovine cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase (PCK1) gene transcription. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 6, p. 7252–7261, 1 jun. 2021.

ZHANG, Y. Y.; WANG, H. B.; WANG, Y. N.; WANG, H. C.; ZHANG, S.; HONG, J. Y.; GUO, H. F.; CHEN, D.; YANG, Y.; ZAN, L. Sen. Transcriptome analysis of mRNA and microRNAs in intramuscular fat tissues of castrated and intact male Chinese Qinchuan cattle. **PLOS ONE**, v. 12, n. 10, p. e0185961, 1 out. 2017

SEGUNDO CAPÍTULO – ARTIGO

“Efeitos do tamanho de partícula na qualidade da carne bovina e lipogênese em novilhas Nelore em terminação”

¹Ruth Ccalta Hanco, ¹Marcio Machado Ladeira

*mladeira@dzo.ufla.br

¹Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais 37200-000, Brasil

Manuscrito formatado de acordo com as diretrizes de Meat Science

Resumo

Objetivo deste trabalho foi avaliar o tamanho de partícula de silagem de milho sobre a qualidade da carne e expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico de novilhas Nelore terminadas em confinamento. Noventa e quatro novilhas Nelore ($249,71 \pm 34,62$ kg/PC) foram distribuídas em 32 baias (três animais por baia). Os tratamentos consistiram em silagem de milho com partícula de 13 mm (curta) e silagem de milho com tamanho de partícula de 24 mm (longa). O músculo de novilhas alimentadas com partícula curta tendeu apresentar maior teor proteína ($P=0,098$), enquanto que o músculo de novilhas alimentadas com partícula longa apresentou maior teor de gordura ($P=0,05$). Em relação expressão gênica do fígado, novilhas alimentadas com o tamanho de partícula curta aumentaram maior expressão do gene *PC* enquanto, enquanto as alimentadas com partícula longa apresentaram uma maior expressão do gene *PEPCK2*. O tamanho da partícula longa na silagem de milho aumentou a expressão do gene *PPARA* ($P=0,001$), mas não afetou os genes *PPARG* e *SREBF1* ($P>0,05$). A expressão dos genes *LPL*, *FABP4*, *SCD1*, *CPT2* ($P<0,001$) e *ACACA* ($P=0,017$) foram maiores no músculo das novilhas alimentadas com partícula longa. Os resultados sugerem a partícula longa na dieta aumentou a quantidade de gordura intramuscular na carne e afetou a expressão de genes envolvidos na lipogênese.

Palavras-chave: FDNe, marmoreio, tamanho de partícula , turnover lipídico.

1.1.Introdução

Nos últimos anos têm sido utilizados nos confinamentos brasileiros dietas com maior proporção de alimentos concentrados, sendo o amido o maior componente e o que fornece maior quantidade de energia líquida para bovinos em terminação. Dietas com maior concentração energética permitem obter maior eficiência de uso da energia para ganho, melhorando o desempenho dos animais (Caetano et al., 2019 ;Van Cleef et al., 2021) e aumentando o grau de marmoreio nas carcaças (Wood et al., 2008; Park et al., 2018).

No entanto, o consumo de dietas ricas em amido pode levar a uma fermentação rápida no rúmen dos animais, resultando no acúmulo de ácidos graxos voláteis, ácidos orgânicos e causando redução do pH ruminal (Nagaraja & Lechtenberg, 2007). Essas condições podem afetar o desenvolvimento da microbiota ruminal e até mesmo levar a doenças metabólicas, como a acidose ruminal (Zebeli et al., 2012 ;Weiss et al., 2017). Além disso, podem alterar os padrões de alimentação e ruminação, resultando na redução do consumo de alimentos e no desempenho do animal. Por fim, podem ocorrer mudanças na biohidrogenação de ácidos graxos, afetando negativamente a deposição de gordura intramuscular (Jenkins & Harvatine, 2014). De acordo com estudo de Teixeira et al. (2017), uma alteração na rota da biohidrogenação devido ao baixo pH ruminal aumenta a síntese do CLA C18:2 trans10-cis12, que por sua vez reduz a expressão do gene *SREBF1* (Fator de transcrição de ligação de elemento regulador de esterol 1) desencadeando uma redução na síntese de lipídeos, o que pode reduzir a deposição de gordura intramuscular.

Para minimizar esses problemas, em dietas com alta inclusão de concentrado, deve-se levar em consideração o tamanho de partículas dos componentes da dieta, principalmente a forragem, e o teor de partícula efetiva (FDN_e) na dieta. A FDN_e refere-se ao tamanho de partícula do alimento que favorece a mastigação, salivação e ruminação (Mertens, 1997). para manter a integridade e função do rúmen mantendo o pH ruminal dentro dos níveis ideais (Llonch et al., 2020).

Diversos estudos com vacas leiteiras têm evidenciado que a inclusão de partícula longas ajuda na manutenção de um ambiente favorável à microbiota ruminal em relação ao tamanho de partícula pequena (Beauchemin et al., 2003; Yang & Beauchemin, 2006; Yang & Beauchemin, 2007; Zebeli et al., 2012). Em bovinos de corte, Weiss et al., (2017) e Llonch et al., (2020) encontraram que a inclusão de tamanho partículas longas manteve maior tempo de ruminação e reduziu o número de horas abaixo dos limites de pH ruminal, consequentemente melhorando as condições do ambiente ruminal. No entanto, até o momento, não foram encontrados trabalhos que relacionassem o efeito do tamanho de partícula na silagem de milho sobre a expressão de genes lipogênicos e o teor de gordura intramuscular.

Portanto, a hipótese deste trabalho é que o tamanho de partícula longa aumentaria o teor de gordura intramuscular, por meio do aumento na expressão de genes lipogênicos. Para isso, este estudo teve o objetivo de avaliar o efeito de dietas com dois tamanhos de partícula da silagem de milho sobre a qualidade de carne e expressão de genes envolvidos no

metabolismo lipídico de novilhas Nelore terminadas em confinamento, bem como os efeitos destas dietas sobre a expressão de genes envolvidos na gliconeogênese hepática.

1.2. Material e métodos

O estudo foi realizado no Setor de Gado de Corte do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, localizada em Lavras, Brasil. O estudo seguiu as orientações de bem-estar animal aprovadas pelo Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da Universidade Federal de Lavras, conforme o protocolo 174337/2015.

1.2.1. Desenho do experimento, animais e dieta.

Noventa e quatro novilhas da raça Nelore com peso vivo médio inicial de $248 \pm 36,03$ kg foram distribuídas aleatoriamente em 32 baias (3 animais por baia), em um delineamento inteiramente casualizado, com 2 tratamentos e 16 repetições. Os tratamentos consistiram em silagem de milho com partículas de 13mm (Curta) e silagem de milho com tamanho de partícula de 24mm (Longa). As dietas experimentais (Tabela 1) foram formuladas de acordo com o NASEM (2016) para ganhos de peso de 1,2 kg/dia, com fornecimento *ad libitum*, duas vezes por dia, às 7h00 e 16h00.

O período experimental foi de 101 dias, com um período de adaptação de 15 dias, onde a proporção de silagem de planta inteira de milho da dieta diminuiu e a proporção de silagem de grãos reconstituída aumentou a cada 5 dias (sistema *step up*; Tabela 1). Além disso, o tamanho de partícula foi determinado utilizando a metodologia da Pen State University. A fórmula utilizada foi a soma das partículas acima de 8mm (8mm+19mm), (Tabela 2) mais informações detalhada (Acosta, 2022).

No fim do período experimental foram coletadas amostras de sangue das 94 novilhas para mensurar tanto a glicose e D-lactato. As amostras foram coletadas da veia coccígea. Depois, o sangue foi coletado em tubos comerciais (Vacutainer, 10 mL; Becton Dickinson, Franklin Lakes, EUA) sem heparina sódica. Após um período de 30 a 180 minutos para a formação do coágulo e a completa obtenção do soro, as amostras foram centrifugadas ($2.500 \times g$ por 30 min a 4°C) e transferidas para microtubos e posteriormente armazenados a -80°C. Para dos níveis de D-Lactato foi analisada pelo kit comercial (MAK058 para D-Lactato Colorimetric Assay Kit - MAK058 para D-Lactato, Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) e . Glicose Monoreagente Enzimática Colorimétrica (GOD-PAP)-kit Bioclin®, K082, BH, Brasil. As leituras foram realizadas no espectrofotômetro Multiskan GO® (Thermo Scientific, Waltham, EUA).

1.2.2. Abate, coleta e análises

Após o período experimental, foi selecionada aleatoriamente uma novilha de cada baia para a coleta de amostras de qualidade de carne, músculo e fígado. As novilhas foram transportadas por aproximadamente 47 km até um frigorífico comercial (Campo Belo, Minas Gerais, Brazil). Para o abate os animais foram submetidos a processos de insensibilização por concussão cerebral com arma de dardo cativa, seguido da exsanguinação da veia jugular, de acordo com as práticas de abate humanitário definidas no Regulamento de Inspeção Sanitária e Industrial de Produtos de Origem Animal (Brasil, 1997).

Após a esfolagem foram retiradas amostras do músculo *longissimus thoracis*. (LT), da meia-carcaça esquerda na altura da 13^a costela, e durante o processo de evisceração foram retiradas amostras de fígado para a análise de expressão gênica. Essas amostras foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C, a fim de preservar a integridade dos componentes biológicos para posterior análise em laboratório de expressão gênica.

Após 24 horas de resfriamento das carcaças a 4°C, foram coletados três bifes do músculo LT da carcaça esquerda, entre a 12^a e 13^a costelas, onde cada bife tinha 2,54 cm de espessura. Um dos bifes coletados foi utilizado para análise de composição química. Os outros dois bifes foram embalados individualmente a vácuo (Packer modelo BS420, Ubá, MG, Brasil), em embalagens de nylon-polietileno e armazenadas sob refrigeração a 1°C ± 0,5°C (Modelo EL202, EletroLab) para determinação da cor, perda de peso por cozimento (PPC) e força de cisalhamento (FC), em dois tempos de maturação (0 e 14 dias *post mortem*).

1.2.3. Composição química

Para determinar a composição química da carne, aproximadamente 100 gramas de amostra de carne foram trituradas e analisadas usando o infravermelho próximo de acordo com o método 2007-04 da AOAC, por meio do equipamento FoodScan™ (AOAC método: 2007-04; FOSS, Hillerod, Dinamarca).

1.3.1. Coloração e pH da carne

O pH foi mensurado no dia 0 e 14 dias usando o pHmêtro digital DM20 (Digimed Analítica Ltd., São Paulo, SP, Brasil).

Para determinação da coloração, as amostras de carne foram retiradas das embalagens a vácuo e expostas ao ar atmosférico por 30 minutos, para oxigenação da mioglobina. A leitura da cor foi realizada pelo sistema CIE L*a*b* na superfície da carne em pontos aleatórios, com uma média de cinco medições consecutivas, obtidas pelo modo de leitura SCE. Para isso, foi utilizado um calorímetro espectrofotométrico CM-700 (Kônica

Minolta Sensing Inc., Osaka, Japão), com uma abertura de 8 mm, iluminante A, ângulo do observador de 10°. Além disso, foram estimadas as coordenadas polares de croma (C^*) e ângulo de matiz (h^*) usando as seguintes fórmulas: $C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{0.5}$ e $h^* = \tan^{-1}(b^*/a^*)$.

1.2.4. Perda de peso por cozimento e força de cisalhamento.

Para determinação da perda por cozimento (PPC), os bifes foram pesados (peso inicial; PI) e grelhados a uma temperatura 160-180°C até atingirem temperatura interna de 71°C (AMSA, 1995), monitorada por termômetro digital (TD-880 com termopar tipo K; ICEL, Manaus, AM, Brasil) inserido no centro geométrico de cada bife. Em seguida, cada bife foi acondicionado à temperatura ambiente até estabilizar a temperatura e finalmente o bife foi pesado (peso final; PF). A perda de peso por cozimento (PPC) foi calculada na seguinte fórmula ($PPC = (PI - PF) / PI * 100\%$).

A Força de Cisalhamento (FC) foi obtida nas mesmas amostras utilizadas para a PPC. O procedimento utilizado foi o método Warner-Bratzler Square Shear Force, conforme descrito por Silva et al. (2015). As amostras de bife foram preparadas removendo-se a gordura e os nervos. Em seguida, os bifes foram cortados em 6 amostras retangulares com medidas de 1,0 x 1,0 x 2,5 cm, orientadas na direção das fibras musculares. Logo, as amostras retangulares foram cisalhadas transversal usando uma lâmina Warner-Bratzler com uma espessura de 1,016 mm, utilizando o texturômetro TA.XTplus, (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Surrey, Reino Unido). O texturômetro registrou a força necessária para cisalhar as amostras e os resultados foram registrados e expresso em kgf). O valor médio das 6 amostras retangulares foi considerado para estimar a força de cisalhamento.

1.2.5. Análises de expressão gênica

Os primers (Tabela 3) foram desenhados utilizando o software Primer3Plus com base nas sequências indexadas na plataforma do NCBI (National Center for Biotechnology Information). A síntese dos oligos foi realizada por empresa comercial (Sigma-Aldrich Brasil Ltda).

A extração do RNA total foi realizada com Kit comercial SV Total RNA Isolation System (Promega, Madison, WI, USA) de acordo com as recomendações do fabricante. Em seguida, foi avaliada a integridade do RNA extraído por eletroforese do gel de agarose 1% (m/v). Para isso, o gel foi corado com GelRed Nucleic Acid Gel Stain e visualizado em fotodocumentador E-Gel® Imager Camera Hood (Life Technologies, Neve Yamin, Israel). Posteriormente, o RNA foi quantificado para avaliar a quantidade (ng/μL) e qualidade (260/280 e 260/230) usando o espectrofotômetro (DeNovix DS-11/DS-11 +

Spectrophotometer Wilmington, DE, USA). A síntese de cDNA foi feita com Kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription (Promega, Madison, WI, USA). A técnica qPCR em tempo real (RT-qPCR) foi realizada utilizando o Eppendorf Realplex (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) com o sistema de detecção SYBR Green (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). As análises de RT-qPCR de cada gene analisado foram conduzidas usando cDNA de 16 réplicas biológicas por tratamento, sendo em cada réplica biológica submetidas a duas réplicas técnicas. Os cálculos da expressão relativa foram calculados utilizando o método de (Pfaffl,2001) e os genes de referência utilizados foram *ACTB* e *GAPDH*. Os primers foram projetados utilizando o software de interface web Primer3Plus, utilizando como base as sequências catalogadas e disponíveis no banco de dados público GenBank, mantido pelo NCBI (National Center for Biotechnology Information). Posteriormente, foram sintetizados pela Invitrogen (Carlsbad, Califórnia, Estados Unidos) e diluídos em um pool amostral para avaliação de eficiência e determinação do coeficiente de regressão (R^2).

1.2.6. Análise estatísticae

Os dados foram analisados usando o PROC MIX do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Primeiramente, foi checada a normalidade de todos os dados do experimento usando o teste de Shapiro-Wilk no software SAS. Quando os dados não apresentaram distribuição normal foi feita a transformação utilizando o PROC RANK. O modelo incluiu como efeito fixo o tamanho de partícula e o animal amostrado de cada baía como efeito aleatório a baía. Para os dados de pH, cor, perda por cozimento e força de cisalhamento da carne, o modelo também incluiu como efeitos aleatórios o tempo de maturação e a interação do tamanho de partícula e tempo de maturação. Os valores de P foram declarados significativos quando $P \leq 0,05$ e as tendências foram discutidas quando ($0,05 < P \leq 0,10$).

1.3.Resultados

Novilhas que receberam dieta de silagem de milho com tamanho de partícula longa apresentaram maiores concentrações de D-lactato ($P < 0,05$) do que com tamanho de partícula curta (Figura 1). Além disso, os níveis de glicose foram significativamente maiores ($P = 0,002$) no grupo com partículas de tamanho longo, registrando 94,75 U/L, em comparação com 81,5 U/L no grupo com partículas de tamanho curto (Figura 2)

O músculo LT das novilhas que receberam dieta de silagem de milho com tamanho de partícula longa apresentou maiores teores de gordura intramuscular ($P < 0,05$) e tendência

de maior teor de proteína ($P=0,09$) em relação aos músculos das novilhas alimentadas com silagem de milho de tamanho de partícula curta (Tabela 4). Não houve diferença entre tratamentos nos demais componentes musculares, incluindo colágeno, umidade e matéria mineral.

Não houve efeito ($P>0,05$; Tabela 5) entre os tratamentos para pH, PPC, FC e para os índices de cor (L^* , e b^* chroma e hue). Da mesma forma não houve interação partícula \times tempo para as características de qualidade da carne. Todavia, o tempo de maturação de 14 dias aumentou o pH ($P<0,001$), bem como os índices de cor (L^* , a^* , b^* , hue e croma). A força de cisalhamento da carne reduziu de forma significativa com a maturação.

No fígado, as novilhas alimentadas com tamanho de partícula de silagem de milho curta tenderam a apresentar maior expressão de *PC* ($P=0,061$) em comparação com aquelas alimentadas com tamanho de partícula longa de silagem de milho (Figura). Por outro lado, houve maior expressão dos genes *PEPCK2* e *LDHA* ($P<0,05$) nas novilhas que receberam as dietas com partícula longa da silagem. As expressões dos genes *PEPCK1* e *PPCA* não foram influenciadas pelas dietas ($P>0,05$).

Em relação aos fatores de transcrição, o músculo LT das novilhas alimentadas com tamanho de partícula de silagem de milho longa apresentou maior expressão do gene *PPARA* ($P=0,015$) em comparação ao tamanho de partícula curta de silagem de milho (3 3). No entanto, não houve ($P>0,05$) efeito entre os tratamentos sobre os fatores de transcrição *PPARG* e *SREBF1*. A expressão dos genes *LPL*, *FABP4*, *SCD1*, *CPT2* ($P<0,001$) e *ACACA* ($P=0,017$) foi maior no músculo das novilhas alimentadas com tamanho de partícula longa. Por outro lado, as dietas não afetaram a expressão dos genes *FASN* e *ACOX* ($P>0,05$).

1.4.Discussão

O maior teor de gordura no músculo das novilhas alimentadas com partícula longa pode ser explicado pelos resultados de expressão gênica, pois a deposição de gordura é resultado do equilíbrio entre a captação de ácidos graxos através da membrana pelas proteínas LPL e FABP4; a síntese de novo, que requer a atividade das enzimas acetil CoA carboxilase, ácido graxo sintetase e estearoil-CoA dessaturase, que são codificadas pelos genes *ACACA*, *FASN* e *SCD*, respectivamente; e o catabolismo lipídico via β -oxidação (Ladeira et al., 2018). Apesar de no presente estudo, as novilhas alimentadas com tamanho de partícula longa terem apresentado maior expressão do gene *CPT2* (gene de oxidação), este efeito não foi o suficiente para compensar a maior expressão dos genes de captação (*LPL* e *FABP4*) e síntese (*ACACA* e *SCD1*), o que possibilitou 25% mais deposição de gordura nesses animais. O gene *CPT2* no músculo das novilhas recebendo partícula longa

foi maior em média 0,6 fold change que nas novilhas recebendo tamanho de partícula curta, enquanto *FAPB4* e *SCD1* foram em média 1,58 e 0,99 fold change, respectivamente, o que mostra que a síntese e captação foram mais expressivas que a oxidação. Adicionalmente, estudos anteriores corroboram essas descobertas. Krause e Combs (2003), em sua pesquisa com vacas leiteiras, observaram redução na porcentagem de gordura no leite (3,07% versus 2,90%) em dietas contendo partículas curtas, provenientes de silagem de alfafa.

Segundo Smith et al. (2018), a glicose é considerada uma importante fonte de carbono para a síntese de novo de ácidos graxos. Portanto, a maior concentração sanguínea de glicose pode ter sido oriunda de uma maior gliconeogênese hepática nos animais alimentados com partícula longa, via lactato, uma vez que a expressão do gene *LDHA* foi maior nos animais alimentados com essa dieta. Além disso, houve também tendência de maior concentração sérica de D-lactato nos animais alimentados com partícula longa. O aumento da disponibilidade de glicose circulante pode ser atribuída também ao aumento na expressão de *PEPCK2*, já que, nos ruminantes este gene codifica uma enzima responsável por 50% da regulação da gliconeogênese no fígado (Agca et al., 2003; Aschenbach et al., 2010). Portanto, a maior glicemia nos animais alimentados com partícula longa pode resultar em maior disponibilidade deste substrato para a síntese de ácidos graxos no músculo, conforme sugerido pela teoria de Smith et al. (2018), contribuindo assim para o aumento da gordura intramuscular.

Embora tenha sido observada uma tendência para maior concentração de lactato na dieta com partícula longa, o que não era de se esperar, o próprio lactato poderia resultar em diminuição do pH, alteração na biohidrogenação e conseqüentemente, redução da gordura intramuscular. No entanto, a ausência de efeitos sobre a expressão de *SREBF1* demonstra que este efeito não ocorreu. Teixeira et al. (2017) demonstraram que o aumento de C18:2 trans-10, cis-12 reduziu a expressão do gene *SREBF1* no músculo de tourinhos alimentados com grãos de milho inteiro. No entanto, no presente trabalho, a ausência de efeitos sobre a expressão de *SREBF1* demonstra que este efeito não ocorreu.

Por outro lado, o uso do D-lactato na gliconeogênese para a síntese de glicose não parece ter impacto negativo significativo, podendo até ampliar a síntese de gordura intramuscular, por aumentar a concentração de glicose, precursora de unidades de carbono para a síntese de acetil-coA.

É crucial destacar que o tamanho das partículas está intimamente ligado à manutenção do pH ruminal, o que, por sua vez, influencia a rota da biohidrogenação de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) (Jenkins; Harvatine, 2014). Um pH ruminal mais

elevado pode aumentar as concentrações de ácido linoleico conjugado (CLA) (C18:2 cis-9 trans-11), que por sua vez pode contribuir para o aumento da gordura intramuscular (Santos-Silva et al., 2004; Matar et al., 2020). No tecido muscular, o CLA está ligado quimicamente fortemente ao fator de transcrição *PPARA*, que controla a expressão dos genes ligados ao metabolismo lipídico dos ácidos graxos (Carta *et al.*, 2014). Outra pesquisa avaliando o músculo do *quadriceps femoral* de ratos mostra que o ácido linoleico conjugado, tanto na isomerização trans 11 e trans 10, pode desencadear a ativação do *PPARA*. Outro estudo demonstrou que, em ratos administrados com CLA cis-9 trans-11, houve aumento da expressão de *PPARA* no músculo. Este processo, por sua vez, estimula a captação e o armazenamento de ácidos graxos ao regular a expressão do *FABP4*. Conseqüentemente, observou-se aumento no conteúdo de gordura intramuscular (Chen et al., 2022). *FABP4* é utilizado como marcador de adipócitos intramusculares, sendo, portanto, um indicador de marmoreio (Chen et al. 2013; Jurie et al. 2007). O gene *FABP4* contém um sítio de ligação aos elementos responsivos do *PPAR* (*PPRE*), podendo ser regulado positivamente por esse fator de transcrição (Chen et al. 2022; Malgwi et al. 2022). Outra pesquisa realizada em novilhos zebuinos recebendo grãos de oleaginosas apresentou uma correlação positiva entre a expressão dos genes *PPARA*, *FABP4* e *SCD* (Oliveira, 2014). Portanto, no presente trabalho foi evidenciado que os animais alimentados com partícula longa apresentaram maior expressão do *PPARA*, *FABP4* e apresentaram maior marmoreio.

Apesar das mudanças nos genes e da melhoria na composição de gordura, os demais atributos de qualidade da carne, como coloração, maciez e PPC não foram influenciados pelas dietas. Esses resultados assemelham-se aos achados anteriores de Khan *et al.*, (2016) e Bhat *et al.*, (2018). Por outro lado, durante o processo de maturação, foram observados aumentos nos valores de L*, a* e b*, resultados congruentes com os estudos de Monteiro et al., (2022) e Aroeira et al., (2016). Em relação à carne maturada, é possível associar o aumento de L*, ao longo do período de maturação à desintegração do disco Z do sarcômero. Este fenômeno provoca dispersão mais ampla da luz incidente, contribuindo para o incremento da luminosidade da carne (Oliete et al. 2005). Quanto ao aumento de C*, é explicado pela redução na taxa de consumo de oxigênio (TCO) da carne, que implica em maiores proporções de oximioglobina (OMb) na superfície, e o aumento em h*, é associado ao processo de descoloração da carne, um incidente especialmente sensível na mensuração da estabilidade da cor de carnes (Aberle, 2001). Já a força de cisalhamento foi menor após 14 dias de maturação. A diminuição de força de cisalhamento após maturação é explicada

pelo aumento da proteólise *post mortem*, que é caracterizada pela ação enzimática de proteases dependentes de cálcio (Morgan et al., 1993). O aumento do pH durante o período de maturação de 14 dias pode ser associado com a degradação das proteínas miofibrilares (Barón et al., 2021). Esta degradação das proteínas miofibrilares pode ser atribuída à ativação da calpaína I, com foco particular na degradação das proteínas musculares como titina e nebulina (Lomiwes et al., 2014).

1.5 Conclusão

Conclui-se que a inclusão de silagem de milho com tamanho de partícula longa na dieta pode ser estratégia promissora para melhorar a qualidade da carne por meio de aumento no teor de gordura intramuscular, já que ela tem influência positiva sobre a expressão de genes lipogênicos.

1.6 Referências

- Aberle, E. D. (2001). *Principles of meat science*. Kendall/Hunt.
- Acosta,GF.(2022). Efeitos do tamanho de partícula da silagem de milho e da presença de vitaminas b e hidroxí- minerais na dieta sobre a digestibilidade e comportamento ingestivo de novilhas nelore lavras – mg e da presença de vitaminas b e hidroxí-minerais na,disertacao de mestrado, Universidade Federal de Lavras.
- Agca, C., Greenfield, R. B., Hartwell, J. R., & Donkin, S. S. (2003). Cloning and characterization of bovine cytosolic and mitochondrial PEPCCK during transition to lactation. *Physiological Genomics*, *11*(14), 53–63. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00108.2001>
- Aroeira, C. N., Torres Filho, R. A., Fontes, P. R., Gomide, L. A. M., Ramos, A. L. S., Ladeira, M. M., & Ramos, E. M. (2016). Freezing, thawing and aging effects on beef tenderness from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. *Meat Science*, *116*, 118–125. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2016.02.006>
- Aschenbach, J. R., Kristensen, N. B., Donkin, S. S., Hammon, H. M., & Penner, G. B. (2010). Gluconeogenesis in dairy cows: The secret of making sweet milk from sour dough. *IUBMB Life*, *62*(12), 869–877. <https://doi.org/10.1002/iub.400>
- Barón, C. L. C., dos Santos-Donado, P. R., Ramos, P. M., Donado-Pestana, C. M., Delgado, E. F., & Contreras-Castillo, C. J. (2021). Influence of ultimate pH on biochemistry and quality of Longissimus lumborum steaks from Nellore bulls during ageing. *International Journal of Food Science & Technology*, *56*(7), 3333–3343. <https://doi.org/10.1111/IJFS.14955>
- Beauchemin, K. A., Yang, W. Z., & Rode, L. M. (2003). Effects of particle size of alfalfa-based dairy cow diets on chewing activity, ruminai fermentation, and milk production. *Journal of Dairy Science*, *86*(2), 630–643. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73641-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73641-8)
- Caetano, M., Goulart, R. S., Rizzo, P. M., Silva, S. L., Drouillard, J. S., Leme, P. R., &

- Lanna, D. P. D. (2019). Impact of flint corn processing method and dietary starch concentration on finishing performance of Nellore bulls. *Animal Feed Science and Technology*, 251, 166–175. <https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2019.03.006>
- Carta, G., Murru, E., Cordeddu, L., Ortiz, B., Giordano, E., Belury, M. A., Quadro, L., & Banni, S. (2014). Metabolic interactions between vitamin A and conjugated linoleic acid. *Nutrients*, 6(3), 1262–1272. <https://doi.org/10.3390/NU6031262>
- Chen, J., You, R., Lv, Y., Liu, H., & Yang, G. (2022). Conjugated linoleic acid regulates adipocyte fatty acid binding protein expression via peroxisome proliferator-activated receptor α signaling pathway and increases intramuscular fat content. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1029864. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2022.1029864/FULL>
- Jenkins, T. C., & Harvatine, K. J. (2014). Lipid Feeding and Milk Fat Depression. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 30(3), 623–642. <https://doi.org/10.1016/J.CVFA.2014.07.006>
- Llonch, L., Castillejos, L., & Ferret, A. (2020). Increasing the content of physically effective fiber in high-concentrate diets fed to beef heifers affects intake, sorting behavior, time spent ruminating, and rumen pH. *Journal of Animal Science*, 98(6). <https://doi.org/10.1093/JAS/SKAA192>
- Lomiwes, D., Farouk, M. M., Wu, G., & Young, O. A. (2014). The development of meat tenderness is likely to be compartmentalised by ultimate pH. *Meat Science*, 96(1), 646–651. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2013.08.022>
- Matar, A. M., Abdelrahman, M. M., Alhidary, I. A., Ayadi, M. A., Alobre, M. M., & Aljumaah, R. S. (2020). Effects of Roughage Quality and Particle Size on Rumen Parameters and Fatty Acid Profiles of Longissimus Dorsi Fat of Lambs Fed Complete Feed. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 10(11), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ANI10112182>
- Mertens, D. R. (1997). Creating a System for Meeting the Fiber Requirements of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 80(7), 1463–1481. [https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302\(97\)76075-2](https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(97)76075-2)
- Monteiro, P. A. M., Maciel, I. C. F., Alvarenga, R. C., Oliveira, A. L., Barbosa, F. A., Guimarães, S. T., Souza, F. A., Lanna, D. P. D., Rodrigues, B. M., & Lopes, L. S. (2022). Carcass traits, fatty acid profile of beef, and beef quality of Nellore and Angus x Nellore crossbred young bulls finished in a feedlot. *Livestock Science*, 256, 104829. <https://doi.org/10.1016/J.LIVSCI.2022.104829>
- Morgan, J. B., Wheeler, T. L., Koohmaraie, M., Savell, J. W., & Crouse, J. D. (1993). Meat tenderness and the calpain proteolytic system in longissimus muscle of young bulls and steers. *Journal of Animal Science*, 71(6), 1471–1476. <https://doi.org/10.2527/1993.7161471X>
- Nagaraja, T. G., & Lechtenberg, K. F. (2007). Acidosis in Feedlot Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 23(2), 333–350. <https://doi.org/10.1016/J.CVFA.2007.04.002>
- Oliete, B., Moreno, T., Carballo, J. A., Varela, A., Monserrat, L., & Sánchez, L. (2005). Influence of ageing time on the quality of yearling calf meat under vacuum. *European Food Research and Technology*, 220(5–6), 489–493. <https://doi.org/10.1007/S00217-004-1071-6/METRICS>

- Oliveira, D. M., Chalfun-Junior, A., Chizzotti, M. L., Barreto, H. G., Coelho, T. C., Paiva, L. V., Ladeira, M. M. (2014). Expression of genes involved in lipid metabolism in the muscle of beef cattle fed soybean or rumen-protected fat, with or without monensin supplementation. *Journal of Animal Science*. doi: 10.2527/jas.2014-7855
- Park, S. J., Beak, S. H., Jung, D. J. S., Kim, S. Y., Jeong, I. H., Piao, M. Y., Kang, H. J., Fassah, D. M., Na, S. W., Yoo, S. P., & Baik, M. (2018). Genetic, management, and nutritional factors affecting intramuscular fat deposition in beef cattle - A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(7), 1043–1061. <https://doi.org/10.5713/AJAS.18.0310>
- Santos-Silva, J., Mendes, I. A., Portugal, P. V., & Bessa, R. J. B. (2004). Effect of particle size and soybean oil supplementation on growth performance, carcass and meat quality and fatty acid composition of intramuscular lipids of lambs. *Livestock Production Science*, 90(2–3), 79–88. <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.02.013>
- Van Cleef, E. H. C. B., De Oliveira, P. S. N., Galati, R. L., Ferreira, D. S., Santos, V. C., Homem Junior, A. C., Pereira Júnior, S. A. G., Pardo, R. M. P., & Ezequiel, J. M. B. (2021). High-concentrate diets with fibrous by-products for feedlot Nellore heifers. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 93(3). <https://doi.org/10.1590/0001-3765202120190731>
- Weiss, C. P., Gentry, W. W., Meredith, C. M., Meyer, B. E., Cole, N. A., Tedeschi, L. O., McCollum, F. T., & Jennings, J. S. (2017). Effects of roughage inclusion and particle size on digestion and ruminal fermentation characteristics of beef steers. *Journal of Animal Science*, 95(4), 1707–1714. <https://doi.org/10.2527/jas2016.1330>
- Wood, J. D., Enser, M., Fisher, A. V., Nute, G. R., Sheard, P. R., Richardson, R. I., Hughes, S. I., & Whittington, F. M. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science*, 78(4), 343–358. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2007.07.019>
- Yang, W. Z., & Beauchemin, K. A. (2006). Physically effective fiber: Method of determination and effects on chewing, ruminal acidosis, and digestion by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89(7), 2618–2633. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72339-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72339-6)
- Yang, W. Z., & Beauchemin, K. A. (2007). Altering physically effective fiber intake through forage proportion and particle length: Chewing and ruminal pH. *Journal of Dairy Science*, 90(6), 2826–2838. <https://doi.org/10.3168/JDS.2007-0032/ATTACHMENT/5B09E946-87FF-462D-B776-805A7F5F96E8/MMC1.PDF>
- Zebeli, Q., Aschenbach, J. R., Tafaj, M., Boguhn, J., Ametaj, B. N., & Drochner, W. (2012). Invited review: Role of physically effective fiber and estimation of dietary fiber adequacy in high-producing dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 95(3), 1041–1056. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4421>

Tabela 1. Proporção de ingredientes nas dietas do período de adaptação e dieta final.

Ingredientes (% da MS)	Step 1	Step 2	Step 3	Dieta final
Silagem de milho	50.0	40.0	30.0	19.5
Milho grão	26.3	26.3	26.3	26.3
Silagem de grãos reconstituídos	8.60	18.6	28.6	39.1
Farelo de algodão	7.10	7.10	7.10	7.10
Farelo de soja	3.95	3.95	3.95	3.95
Ureia	0.85	0.85	0.85	0.85
Bell Peso	3.20	3.20	3.20	3.20

Tabela 2. Composição química (% MS) e distribuição de partículas das dietas experimentais

Composição química	Curta	Longa
Matéria seca. % matéria natural	54.4	57,0
FDN	18.8	18.5
Proteína bruta	13.9	13.9
Amido	51.9	51.9
Extrato Etéreo	3.79	3.79
NDT	79.9	79.9
Distribuição das partículas. %		
19 mm	1.4	3.93
8 mm	18.96	19.76
4 mm	15.33	12.78
Fundo	64.31	63.73
FDN efetiva > 8mm	5.38	6.82

Tabela 3.. Sequência (5' para 3') e eficiência dos primers que foram usados na PCR quantitativa em tempo real

Symbol	Name	Forward (F) and Reverse (R)	Access Number	Amplicon (bp)	R ²	Efficiency
<i>PPARA</i>	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor alpha</i>	F CAATGGAGATGGTGGACACA R TTGTAGGAAGTCTGCCGAGAG	NM_001034036.1	95	0.992	99.2
<i>PPARG</i>	<i>Peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i>	F GCAATCAAAGTGGAGCCTGT R CCATGAGGGAGTTGGAAGG	NM_181024.2	94	0.973	100
<i>SREBF1</i>	<i>Sterol regulatory element-binding protein-1c</i>	F GAGCCACCCTTCAACGAA R TGTCTTCTATGTCGGTCAGCA	NM_001113302.1	88	0.985	98
<i>LPL</i>	<i>Lipoprotein lipase</i>	F CTCAGGACTCCCGAAGACAC R GTTTTGCTGCTGTGGTTGAA	NM_001075120.1	98	0.99	96.7
<i>FABP4</i>	<i>Fatty acid binding protein 4</i>	F GGATGGAAAATCAACCACCA R GTGGCAGTGACACCATTCAT	NM_174314.2	84	0.991	97
<i>ACACA</i>	<i>Acetyl CoA carboxylase alfa</i>	F TGAAGAAGCAATGGATGAACC R TTCAGACACGGAGCCAATAA	NM_174224.2	88	0.994	96.6
<i>FASN</i>	<i>Fatty acid synthase</i>	F ATCAACTCTGAGGGGCTGAA R CAACAAAACCTGGTGCTCACG	U34794.1	83	0.974	99.5
<i>SCD1</i>	<i>Stearoyl-CoA desaturase</i>	F ACCATCACAGCACCTCCTTC R ATTTCAGGGCGGATGTCTTC	NM_173959.4	95	0.991	98
<i>ACOX</i>	<i>Acyl-coenzyme A oxidase 1</i>	F GCTGTCCTAAGGCGTTTGTG R ATGATGCTCCCCTGAAGAAA	BC102761.2	83	0.994	99
<i>CPT2</i>	<i>Carnitine palmitoyl transferase 2</i>	F CTATTCCCAAACCTTGAAGAC R TTTTCCTGAACTGGCTGTCA	NM_001045889.2	81	0.952	98
<i>ACTB</i>	<i>Actin beta</i>	F GTCCACCTTCCAGCAGATGT R CAGTCCGCCTAGAAGCATTT	NM_173979.3	90	0.996	105

<i>GAPDH</i>	<i>Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase</i>	F CACAGTCAAGGCAGAGAACG R ATTCTCAGTGTGGCGGAGAT	NM_001034034.2	78	.995	98
<i>PC</i>	Pyruvate Carboxylase	F CGGGAAGGTGATAGACATCAAG R GAGGTCACTACAGTCTCCATCT	XM_005226994.4	102	.988	99.5
<i>PEPCK1</i>	Phosphoenolpyruvate Carboxykinase 1	F AATAGCAGGCTCCAGGAAATAG R GGCTAACTGATACAGCTAAGGG	NM_174737.2	112	.998	99.2
<i>PEPCK2</i>	Phosphoenolpyruvate Carboxykinase 2	F GCTGGAAAGTGGAGTGTGT R AGCCATTCTCAGGGTTGATG	NM_001205594.1	90	.979	98
<i>LDHA</i>	Lactate Dehydrogenase A	F TCCAACATGGCAGCCTTTTC R ACGCTGGACCAAATTCAGAC	NM_174099.2	103	.971	99
<i>PCCA</i>	Propionyl-CoA Carboxylase Subunit Alpha	F TTTGGTTTGCCGTCTGTTGG R TTGAATGCCGCTGTCAACTC	XM_024999953.1	44	.996	97.9

Tabela 4. Composição química (%) da carne de novilhas alimentadas com diferentes tamanhos de partícula de silagem de milho.

Item	Curta	Longa	EPM	Valor P
Umidade	72.1	71.6	0.31	0.28
Proteína	23.3	22.9	0.16	0.09
Gordura	2.62	3.28	0.23	0.05
Matéria mineral	1.82	2.24	0.18	0.11
Colágeno	1.53	1.61	0.08	0.47

Tabela 5. Características da qualidade de carne de novilhas alimentadas com diferentes tamanhos de partícula de silagem de milho em diferentes dias de maturação.

Item	Día 0		Día 14		EPM	Valor P		
	Curta	Longa	Curta	Longa		Particula	Dia	Fibra*Dia
pH	5.50	5.46	5.51	5.54	0.02	0.82	0.02	0.14
L*	42.2	42.2	43.4	43.3	0.71	0.92	<0.01	0.97
a*	21.1	20.4	21.9	22.9	0.51	0.82	<0.01	0.08
b*	13.1	13.3	15.2	15.9	0.43	0.36	<0.01	0.46
Hue, h (°)	42.8	42.4	48.1	46.5	1.06	0.36	<0.01	0.57
Croma, C*	24.5	24.4	26.7	27.6	0.60	0.56	<0.01	0.34
PPC %	18.1	17.3	18.3	19.8	1.07	0.95	0.13	0.11
FC (kgf)	9.02	9.46	5.08	5.48	0.54	0.75	<0.01	0.96

PPC; perda por cocção, FC; força por cisalhamento

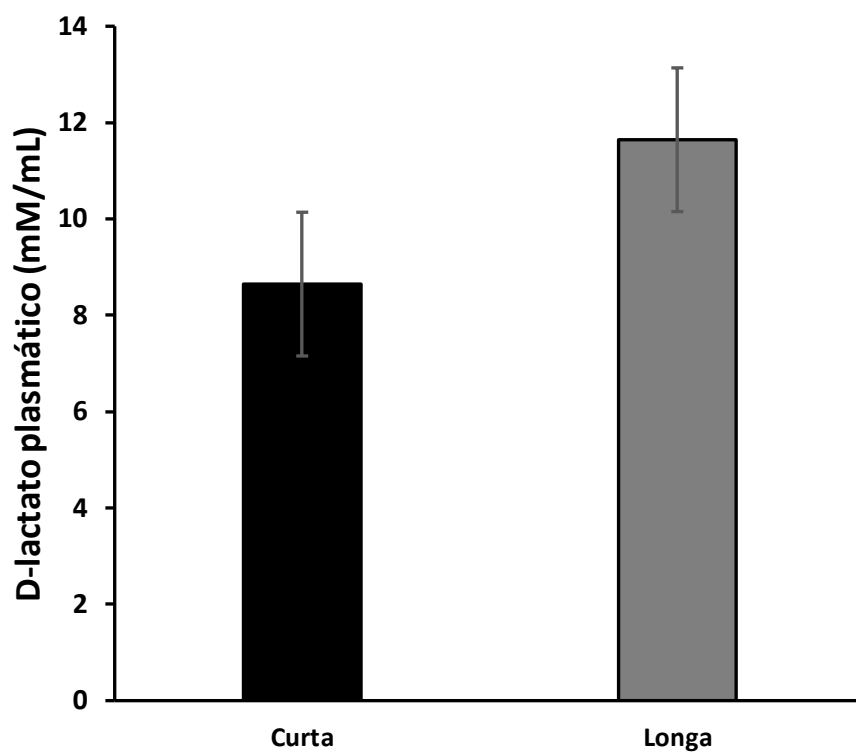


Figura 1. D-Lactato nas novilhas Nelore alimentadas com diferentes tamanhos de partícula de silagem de milho. Os valores são significativamente diferentes ($P \leq 0.05$) e SEM = 1,4918

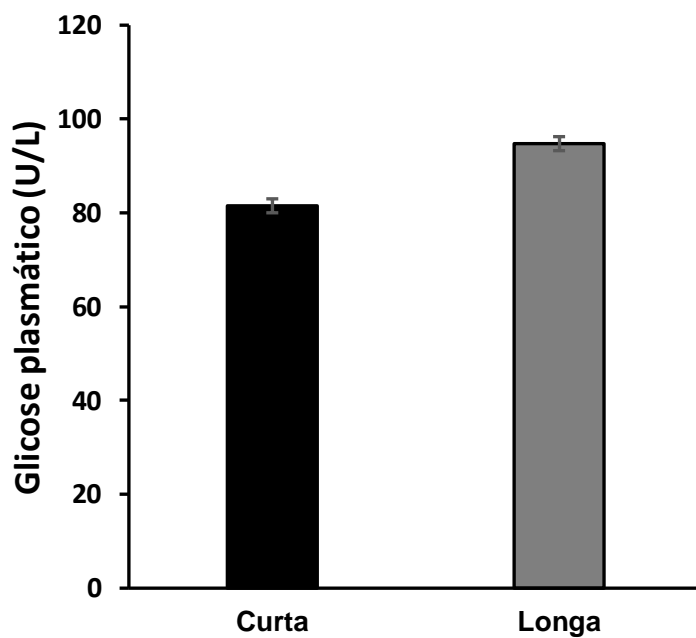


Figura 2. Glicose plasmático nas novilhas Nelore alimentadas com diferentes tamanhos de partícula de silagem de milho. Os valores são significativamente diferentes ($P \leq 0.05$) e SEM = 4.417

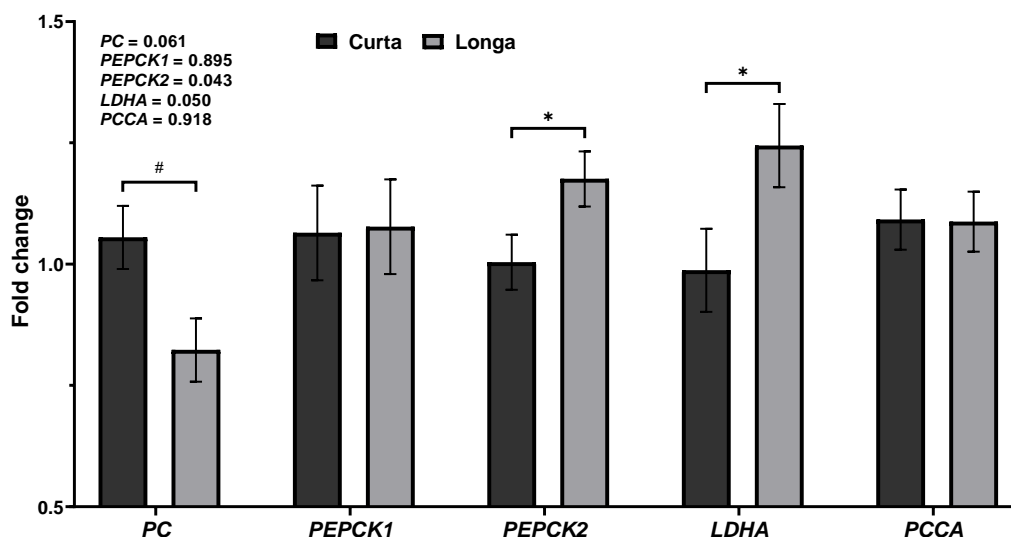


Figura 3. Expressão relativa de genes envolvidos na gliconeogênese no fígado de novilhas Nelore alimentadas com diferentes tamanhos de partícula de silagem de milho. Os valores são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) e representam uma tendência a ser diferente ($0,05 > P \leq 0,10$).

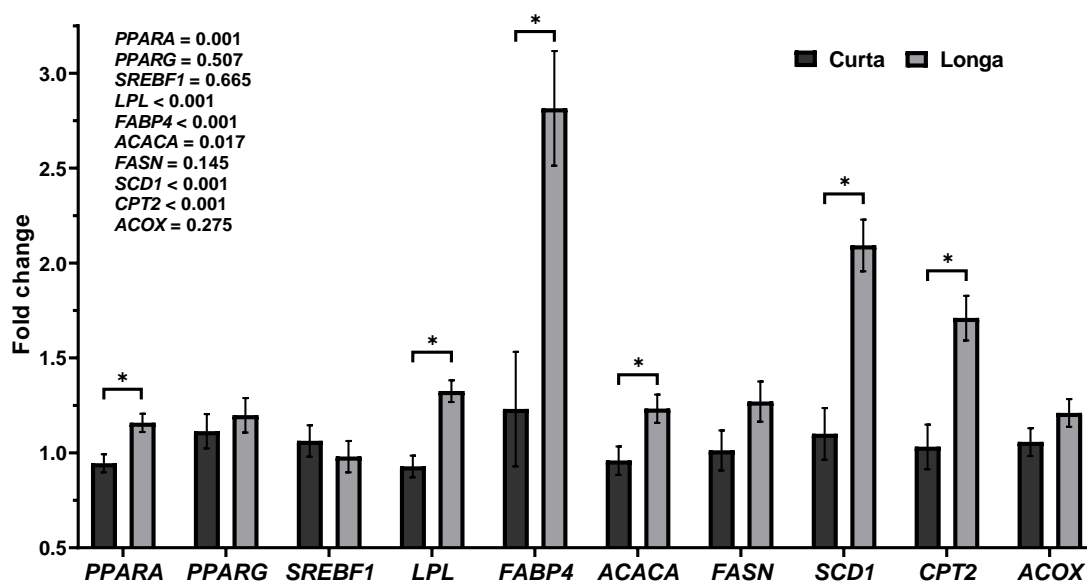


Figura 4. Expressão relativa de genes envolvidos no metabolismo lipídico no músculo longissimus thoracis de novilhas Nelore alimentadas com diferentes tamanhos de partícula de silagem de milho. Os valores são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) e representam uma tendência a ser diferente ($0,05 > P \leq 0,10$).