

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ARÍCIA CHRISTOFARO FERNANDES

**Efeitos da programação fetal de novilhos Nelore na qualidade da carne e no
metaboloma muscular e adiposo**

**Effects of fetal programming of Nelore steers on meat quality and on muscle
and adipose metabolome**

Pirassununga

2022

ARÍCIA CHRISTOFARO FERNANDES

**Efeitos da programação fetal de novilhos Nelore na qualidade da carne e no
metaboloma muscular e adiposo**

Versão corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências do Programa de Pós-graduação em Biociência Animal.

Área de concentração: Biociência Animal – Nutrigenômica e Bovinocultura de corte

Orientador: Prof. Dr. Miguel Henrique de Almeida Santana

Co-orientação: Dra. Mirele Daiana Poleti

Pirassununga

2022



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Fenômica da Programação Fetal na Produção de Bovinos de Corte: Uma Abordagem Sistêmica", protocolada sob o CEUA nº 1843241117, sob a responsabilidade de **Miguel Henrique de Almeida Santana** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo - FZEA/USP (CEUA/FZEA) na reunião de 09/03/2018.

We certify that the proposal "Fenomics of Fetal Programming Effects on Beef Cattle Production: A Systemic Approach", utilizing 250 Bovines (males and females), protocol number CEUA 1843241117, under the responsibility of **Miguel Henrique de Almeida Santana** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Animal Science and Food Engineering - (São Paulo University) (CEUA/FZEA) in the meeting of 03/09/2018.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de [12/2017](#) a [07/2020](#)

Área: [Bovinocultura de Corte](#)

Origem: [Prefeitura do Campus da FZEA da USP](#)

Espécie: [Bovinos](#)

sexo: [Machos e Fêmeas](#)

idade: [0 a 6 anos](#)

N: [250](#)

Linhagem: [Nelore](#)

Peso: [30 a 550 kg](#)

Resumo: Indicações de que perturbações em fases críticas da vida pré e pós-natal causam efeitos permanentes na saúde e produtividade na vida dos mamíferos, conhecido como programação fetal (PF), não são novidade na literatura científica. Porém, ainda há muito a estudar quanto aos mecanismos desses estímulos/deficiências nutricionais durante a gestação, em especial a importância quantitativa do fenômeno em relação aos seus efeitos na eficiência produtiva dos bovinos. No caso específico do Brasil, onde predomina a raça Nelore, a partir do terço médio da gestação, ocorre um déficit nutricional nesta época porque as pastagens já não suprem quali-quantitativamente os nutrientes necessários para a vaca. Adicionalmente, no terço final da gestação, quando há uma demanda maior do feto, o déficit nutricional é agravado pela estação seca. No presente projeto serão estudados os efeitos fisiológicos, morfológicos e econômicos do estímulo nutricional durante a gestação de vacas Nelore sobre a reprodução, desempenho, ingestão, eficiência alimentar, características de carcaça e qualidade de carne de suas progênes de forma sistêmica. Serão usadas 150 vacas gestantes de um único touro. Durante a gestação ? das matrizes receberão suplementação proteico-energética por toda gestação, outro ? das matrizes somente no terço final e ? não receberão esse estímulo nutricional. As vacas e suas crias serão avaliadas nas fases de cria, recria e terminação pela biologia de sistema via diversas avaliações fisiológicas, morfológicas e por abordagens ômicas (nutrigenômica, genômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica). Complementarmente, a viabilidade econômica da PF será avaliada na venda do bezerro à desmama e na renda obtida ao abate. Os resultados desse projeto ajudarão a determinar os mecanismos fisiológicos da PF por todo ciclo de produção de bovinos de corte, além fomentar o desenvolvimento de novas abordagens de avaliação que poderão impactar positivamente em todas as esferas dessa cadeia produtiva.

Local do experimento: Piquetes de pastagem, Confinamento e Abatedouro

Pirassununga, 10 de março de 2018

CEUA N 1843241117



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
Comitê de Ética em Pesquisa da FZEA

Profa. Dra. Daniele dos Santos Martins
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade
de São Paulo - FZEA/USP

Profa. Dra. Cristiane Gonçalves Titto
Vice-Cordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo - FZEA/USP

Av. Duque de Caxias Norte, 225 - CEP 13635-900 Pirassununga/SP - tel: 55 (19) 3565 4254 / fax:
Horário de atendimento: 2ª a 6ª das 8h as 17h : e-mail: cepfzea@usp.br
CEUA N 1843241117

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP, com os dados
fornecidos pela autora

F363e

Fernandes, Arícia Christofaro Efeitos da
programação fetal de novilhos Nelore na qualidade
da carne e no metaboloma muscular e adiposo /
Arícia Christofaro Fernandes ; orientador Miguel
Henrique de Almeida Santana ; coorientadora Mirele
Daiana Poleti. -- Pirassununga, 2022.
57 f.

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

1. Programação Fetal. 2. Qualidade da carne. 3.
Metabolômica . 4. Bovinocultura de corte . 5.
Desenvolvimento muscular e adiposo . I. Santana,
Miguel Henrique de Almeida, orient. II. Poleti,
Mirele Daiana, coorient. III. Título.

Agradecimentos

As entidades financiadoras:

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) [2021/03802-7] por financiar a maior parte da minha bolsa de mestrado e por fomentar o projeto de pesquisa ao qual meu trabalho faz parte [2017/12105–2].

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro na execução do projeto de pesquisa [307593/2021-5].

E também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Processo: 88887.492972/2020-00" por subsidiar os meses iniciais da minha bolsa de mestrado.

As orientações e grupo de pesquisa...

Ao meu orientador, Prof. Dr. Miguel Santana por todo suporte, conhecimento e paciência comigo e meu trabalho, que aceitou esse desafio de me orientar e não mediu esforços para me conduzir a realização de mais uma etapa.

A minha co-orientadora, Dra. Mirele Poleti, pela assistência com o desenvolver do trabalho e correção das etapas.

Ao meu grupo de estudo, GOpec, em especial aos pós-graduandos e equipe de estagiários, que permitiram a realização desse trabalho.

As instituições acadêmicas e profissionais...

A minha Faculdade de coração FZEA-USP, que proporcionou o melhor ambiente para a realização do meu projeto com estrutura física, pessoal (funcionários) e financeira.

Aos colaboradores terceiros, dentre eles empresas, laboratórios, técnicos e acadêmicos.

Aos familiares e amigos...

Aos meus pais e irmãs que me deram o suporte para poder realizar este trabalho. Ao meu namorado por todo cuidado emocional e incentivo na realização do meu mestrado.

Aos meus amigos que me ajudaram de alguma forma no percurso desse trabalho.

Resumo

A pecuária de corte brasileira representa uma parte expressiva da produção de carne no mundo, sendo o maior exportador, e vem tentando melhorar e otimizar sua produtividade para atender e superar as demandas do mercado e do crescimento populacional. A sazonalidade forrageira se coloca como um dos principais desafios dessa produção, já que a criação dos bovinos acontece majoritariamente sob o sistema extensivo. Com isso é necessário a implantação de estratégias nutricionais antes mesmo do nascimento do animal, para garantir um aporte nutricional de qualidade para as matrizes gestarem adequadamente. E isso acontece por meio da programação fetal, quando estímulos gerados durante a gestação são refletidos na prole. Deste modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da suplementação materna durante a gestação de machos Nelore sobre a qualidade de carne desses novilhos e da análise do perfil metabólico do músculo esquelético e da gordura subcutânea. Para tal foram utilizados 63 novilhos da raça Nelore para as análises de qualidade da carne, 18 para a metabolômica da carne e 15 para a gordura. Esses animais eram provenientes de 3 tratamentos experimentais, em que suas mães durante a gestação receberam ou não suplementação: NP – Não Programado, não recebeu suplemento proteico-energético em nenhum momento, PP- Parcialmente Programado, recebeu suplemento proteico-energético apenas no terço final de gestação e PC – Programação Completa, recebeu a suplementação durante toda a gestação. Após a cria, recria, terminação e abate desses machos as análises de qualidade de carne foram realizadas, assim como o processamento de tecido muscular e adiposo para a quantificação de metabólitos. Pouco foi observado nas análises de qualidade da carne, indicando apenas uma tendência ($p = 0,08$) da espessura de gordura subcutânea em se diferenciar. Já a quantificação de metabólitos resultou uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) para 5 classes (25 metabólitos) na carne e 2 classes (10 metabólitos) na gordura subcutânea. Também foi encontrado uma via metabólica diferentemente expressa na carne entre os tratamentos, a via Aminoacyl-tRNA, envolvida com a qualidade da carne. Em suma, os efeitos da programação fetal na progênie de bovinos Nelore se mostraram pouco influentes nos fenótipos de qualidade da carne, porém em nível molecular pode-se observar modificações no metabolismo de moléculas e vias ligadas ao fenótipo de qualidade. Para melhor elucidar a ligação entre essas respostas faz-se necessário mais prospecções sobre o tema.

Palavras-chave: Bovinos de corte, carcaça, carne, metabolômica, nutrição pré-natal

Abstract

Brazilian beef cattle represent a significant part of meat production in the world, being the largest exporter, and has been trying to improve and optimize its productivity to meet and exceed market demands and population growth. Forage seasonality is one of the main challenges of this production, since cattle are raised mostly under the extensive system. With this, it is necessary to implement nutritional strategies even before the birth of the animal, to guarantee a quality nutritional contribution for the matrices to gestate properly. And this happens through fetal programming, when stimuli generated during pregnancy are reflected in the offspring. Thus, the objective of the present study was to evaluate the influence of maternal supplementation during pregnancy of Nellore males on the meat quality of these steers and the analysis of the metabolic profile of skeletal muscle and subcutaneous fat. For this purpose, 63 Nellore steers were used for meat quality analyses, 18 for meat metabolomics and 15 for fat. These animals were from 3 experimental treatments, in which their mothers during pregnancy received or did not receive supplementation: NP – Not Programmed, did not receive protein-energy supplement at any time, PP- Partially Programmed, received protein-energy supplement only in the final third of pregnancy and PC – Full Programming, received supplementation throughout pregnancy. After breeding, rearing, finishing and slaughtering these males, meat quality analyzes were carried out, as well as the processing of muscle and adipose tissue for the quantification of metabolites. Little was observed in the analyzes of meat quality, indicating only a tendency ($p = 0.08$) for subcutaneous fat thickness to differ. The quantification of metabolites resulted in a statistically significant difference ($p < 0.05$) for 5 classes (25 metabolites) in meat and 2 classes (10 metabolites) in subcutaneous fat. A metabolic pathway differently expressed in meat between treatments was also found, the Aminoacyl-tRNA pathway, involved with meat quality. In short, the effects of fetal programming on Nellore cattle progeny proved to have little influence on meat quality phenotypes, changes in the metabolism of molecules and pathways linked to the quality phenotype can be observed. To better elucidate the connection between these responses, further research on the subject is necessary.

Keywords: Beef cattle, carcass, meat, metabolomics, prenatal nutrition

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 2

Figura 1 - Agrupamento dos componentes principais (PCA) pertencentes ao metaboloma da carne (A) e da gordura subcutânea (B) de machos programados durante a gestação.....	47
Figura 2 - Processos metabólicos expressos na carne de machos submetidos a programação fetal (NP, PP e PC).....	48

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Table 1 - Carcass characteristics, total lipids and marbling score of males supplemented during pregnancy.....	18
Table 2. pH and color after shelf life of 1, 3 and 5 days of programmed bulls.....	19
Table 3 - pH and color after maturation of 0, 7 and 14 days of programmed bulls.....	20
Table 4 - Cooking losses (%) and Shear force (N) of programmed steers meat.....	21

Capítulo 3

Tabela 1 - Metabólitos significativos encontrados na carne de machos bovinos suplementados durante a gestação.....	45
Tabela 2 - Metabólitos significativos da gordura subcutânea de machos submetidos a programação fetal.....	46

Sumário

1. Introdução e Justificativa	1
2. Hipótese e objetivos	5
2.1 Hipótese.....	5
2.2 Objetivos gerais.....	5
2.2.1 Objetivos Específicos	5
Referências	6
Chapter 1. Fetal programming and its effects on meat quality of Nellore bulls.....	10
Abstract	11
1. Introduction	12
2. Material and methods	13
2.1 Ethics statement	13
2.2 Experimental design.....	13
2.2.1 Carcass ultrasound and slaughter criterion.....	14
2.3 Slaughter and carcass traits	15
2.4 Meat quality analyses	15
2.4.1 Marbling score.....	15
2.4.2 Total intramuscular lipid	16
2.4.3 Shelf life	16
2.4.4 Maturation, cooking losses, and Warner–Bratzler shear force.....	16
2.5 Statistical analysis	17
3. Results	18
3.1 Carcass traits	18
3.2 Meat quality	18
3.2.1 Marbling score and total lipids.....	18
3.2.2 pH and Color at Shelf life	18
3.2.3 pH and color at maturation.....	19
3.2.4 Cooking losses and shear force	20
4. Discussion	21
4.1 Carcass weight and rib eye area	21

4.2 Subcutaneous fat thickness.....	22
4.3 pH levels.....	24
4.4 Meat color	25
4.5 Warner–Bratzler shear force	25
4.6 Cooking weight losses.....	26
5. Conclusion.....	27
References	27
Capítulo 2. Alterações metabólicas na carne e na gordura subcutânea de bovinos machos submetidos a programação fetal.....	36
Resumo.....	36
1. Introdução	38
2. Material e métodos	39
2.1 Declaração de ética para o uso de animais na experimentação	39
2.2 Desenho experimental	39
2.3 Coleta dos tecidos.....	41
2.4 Homogeneização de tecidos e extração de metabólitos	41
2.4.1 Preparação do solvente de extração.....	42
2.5 Metabólica direcionada	43
2.6 Análise estatística.....	43
3. Resultados	44
3.1 Metabólitos alvos encontrados na carne.....	44
3.2 Metabólitos alvos encontrados na gordura subcutânea	46
3.4 Análise de Componentes Principais (PCA).....	47
3.5 Análise de Enriquecimento	48
4. Discussão.....	49
5. Conclusão.....	52
Referências	53
Conclusão geral	57

1. Introdução e Justificativa

Segundo as estimativas da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) é esperado uma população mundial de 9,7 bilhões de pessoas no mundo em 2050. Esse incremento populacional demandará um aumento na produção de alimentos para que o mercado se mantenha abastecido (FAO, 2017). A busca por produtividade na pecuária se torna mais frequente, porém a globalização exige cada vez mais a sustentabilidade dos sistemas de produção, visando reduzir ao máximo os danos ambientais e os custos, mantendo a segurança e qualidade dos alimentos (MEHRABI *et al.*, 2020).

No Brasil, o setor do agronegócio tem uma enorme participação na economia nacional (IPEA, 2022), gerando cerca de 27% da receita (CNA, 2021), movimentando 913,14 bilhões de reais no agronegócio da pecuária (ABIEC, 2022). A pecuária brasileira representa uma importante participação na produção de proteína animal, seja exportando carne ou incrementando a economia nacional. O país atualmente detém o maior rebanho comercial de bovinos de corte com cerca de 214 milhões de cabeças e ocupa o primeiro lugar no ranking como exportador de carne, porém se encontra em segundo lugar, atrás dos EUA, quando se fala em produção mostrando que o Brasil possui um potencial de crescimento ainda a ser melhorado (ABIEC, 2022). Desse total de cabeças bovinas, mais de 80% são animais com base genética zebuína (ABCZ, 2021), sendo a raça Nelore (ou animais anelorados) mais utilizada para a produção de carne (ACNB, 2022; SILVA; BOAVENTURA; FIORAVANTI, 2012). E a importância dos zebus para os sistemas de produção no clima tropical é indiscutível, pois se mostram bem adaptados às condições edafoclimáticas do país (LIMA *et al.*, 2021).

A grande extensão territorial do Brasil acarreta na existência de uma diversidade de ambientes, com recursos climáticos, econômicos e naturais diferentes entre regiões, logo os sistemas de criação animal se tornam heterogêneos (LIMA *et al.*, 2021; MCMANUS *et al.*, 2016) e esses bovinos podem estar presentes nos diferentes biomas. Mesmo com as proporções de área do Brasil, cerca de 34,3% dos bovinos para corte estão concentrados na região Centro-Oeste (ABIEC, 2022), em um clima com domínio quente e semiúmido com 4 a 5 meses de seca, porém com duas estações bem definidas – um inverno muito seco e um verão com altas temperaturas e chuvoso (NIMER, 1977). A extensão territorial e o clima promovem uma estacionalidade dos grandes campos forrageiros e colocam os animais suscetíveis as mudanças naturais de disponibilidades de alimentos ao longo do ano.

A vegetação acompanha os elementos climáticos e também passa por mudanças ao longo do ano em qualidade e quantidade (DETMANN *et al.*, 2004). A pecuária de corte, principalmente na região central, se desenvolve basicamente em campos de gramíneas de origem africana (*Panicum*, *Brachiaria* e *Pennisetum*), e essas pastagens são essenciais para a dinâmica e sucesso do empreendimento, o que confere ao Brasil uma vantagem (LANDAU, ELENA CHARLOTTE; SIMEÃO; MATOS NETO, 2020). Já que o sistema de criação é predominantemente do tipo extensivo, e mais de 80% da produção envolvendo cria, recria e engorda são realizadas com bovinos criados sob pastejo (ABIEC, 2022; CEZAR *et al.*, 2005).

Sabendo dessa sazonalidade das pastagens nas estações de inverno e verão das regiões tropicais, segundo Hoffmann *et al.* (2014) é necessário o planejamento nutricional dos animais em cada época, e pensando em manter a produtividade animal em bons patamares nas diferentes fases é quase que obrigatório o uso de fontes externas de nutrientes, levando sustentabilidade ao sistema. Para Paulino *et al.* (2002) a função inicial da oferta externa de nutrientes, como os suplementos, no período de seca, é suprir os déficits nutricionais do alimento base (forragens), que se encontra em baixa qualidade e/ou quantidade, logo o aporte de nutrientes limitantes do consumo diário se torna imprescindível. Ao disponibilizá-los de forma correta, é possível garantir a manutenção ou até ganho de peso nos animais a partir das metas estabelecidas para a criação. Os mesmos autores ainda complementam que a suplementação dos animais deve ser considerada caso não se queira ter consequências negativas na produção, com a subnutrição dos bovinos (PAULINO *et al.*, 2002). Logo a intensificação dos processos com o uso de estratégias e/ou tecnologias abre novos caminhos para o Brasil crescer e se torna mais competitivo na produção de carne.

As exigências dos animais se alteram ao longo do ano e principalmente de sua categoria animal (bezerro, novilha, vaca múltipara, etc.) As matrizes produtoras de bezerros, por exemplo passam por mudanças fisiológicas durante o ano e suas exigências variam e nem sempre as condições nutricionais das pastagens são suficientes para que essa fêmea possa produzir adequadamente (GIONBELLI; VALADARES FILHO; DUARTE, 2016), especialmente nos meses de estação seca, que na maior parte do território nacional coincide com a fase de gestação (MOUSQUER; SIMIONI, 2014). Apesar do ciclo inteiro ter sua importância os estabelecimentos utilizam dos diferentes períodos de disponibilidade de pastagem para organizar as atividades na fazenda concentrando a reprodução e a lactação das matrizes na época das chuvas visando garantir um consumo máximo de forragem permitindo uma prenhez e lactação do bezerro com qualidade (COSTA; GIONBELLI; DUARTE, 2021). Essa categoria sofre bastante com esses efeitos, pois permanecem no rebanho por muito

tempo, passando por repetidos períodos de escassez forrageira durante sua vida (PIERRE; ABREU, 2017), impactando direta e/ou indiretamente no desempenho das fêmeas e no desenvolvimento de suas crias.

Assim, a nutrição se torna um fator decisório e limitante para o desempenho dos bovinos. Porém nos últimos anos descobriu-se que o impacto não se limitava as fêmeas, mas que também interferia na progênie de modo significativo e em alguns casos permanente (CATON *et al.*, 2019). Foi nesse momento que surgiu um novo termo que se refere as ações benéficas ou prejudiciais realizadas durante a gestação que resultam de alguma forma na prole e podendo ser levadas à vida adulta, o termo programação fetal (PF) (BARKER, 1995).

Alguns acontecimentos durante a gestação podem acarretar mudanças no desenvolvimento do feto e serem levados a vida adulta (MOREIRA *et al.*, 2019). Essa ideia foi melhor descrita por David Barker e colaboradores em seus estudos com humanos quando observaram que um déficit nutricional durante a gestação resultava em adaptações metabólicas e/ou estruturais nos fetos aumentando o risco a diversas doenças (BARKER, 1995). A partir disso foi construído o termo programação fetal (PF) ou programação do desenvolvimento, que se refere a um estímulo positivo ou negativo durante a gestação promovendo um ambiente uterino diferenciado para o crescimento do feto e alterando a trajetória do desenvolvimento (BARKER, 1995). A fase da vida no útero da mãe e as interferências nesse período são de extrema importância para a cria, uma vez que corresponde ao momento da formação e desenvolvimento dos órgãos, tecidos e sistemas (FUNSTON; SUMMERS, 2013).

Para os animais de produção que são destinados ao corte a formação de tecido muscular esquelético e adiposo são de extrema importância devido sua comercialização. O processo de miogênese (formação do músculo), mais especificadamente a fase de multiplicação das fibras musculares (hiperplasia) ocorre exclusivamente durante o período pré-natal, do início até o terço final. Após o nascimento o processo responsável pelo crescimento do animal é a hipertrofia, que se refere ao aumento do tamanho da célula. Já o tecido adiposo começa a se desenvolver durante a metade até o final da gestação e, embora a adipogênese continue a acontecer após o nascimento, a capacidade de formar novas células de gordura decai com o tempo, ocorrendo apenas o aumento de volume (DU; YIN; ZHU, 2010b).

Diversos estímulos podem caracterizar uma PF, porém os efeitos da nutrição na gestação se mostram como um dos principais fatores na influência ao desenvolvimento fetal

por ser um evento inato. E também pensando nas condições em que a espécie é criada no país a questão nutricional torna-se ainda mais importante de ser abordada.

Uma nutrição deficiente devido a sazonalidade forrageira pode contribuir para um baixo desempenho dos animais, tanto de matrizes como de sua progênie a partir da restrição da quantidade e qualidade de nutrientes (MCCOSKI *et al.*, 2021). O pouco fornecimento de nutrientes, especialmente proteína e energia, para o desenvolvimento fetal é evidente em alguns períodos ao longo do ano e isso dificulta a adequação aos padrões de comercialização no final do ciclo produtivo, resultando em caracteres qualitativos não desejáveis na carne (DU *et al.*, 2011).

Segundos os estudos de Du *et al.* (2010a) e (ZHU *et al.*, 2006) a nutrição materna durante a gestação tem influência sobre o crescimento e tamanho das fibras musculares e a diminuição do número de adipócitos intramusculares dos filhos. Já o nível de restrição energética durante o final da gestação não tem resposta direta sobre o desempenho de crescimento e qualidade da carcaça da prole (RAMÍREZ *et al.*, 2020). Também foi visto alterações nas medidas qualitativas da carne a partir da restrição de nutrientes no período final da prenhez, em que há uma alta demanda por parte do crescimento fetal (DU *et al.*, 2010a).

Apesar da maior demanda por energia acontecer no terço final da gestação devido 75% do crescimento fetal (ROBINSON; CAFÉ; GREENWOOD, 2013), as outras fases desenvolvem um papel importante para o feto e suas funções. Segundo Micke *et al.* (2010) a ingestão de nutrientes no primeiro e segundo trimestre pela vaca teve influência sobre os anticorpos, peso corporal pós-natal e peso de carcaça da progênie macho. Outro estudo dos mesmos autores demonstrou efeitos de longo prazo na expressão de genes ligados a deposição de gordura a partir da ingestão materna de nutrientes durante os dois primeiros trimestres de gestação (MICKE *et al.*, 2010).

De fato, é visto que a nutrição durante a gestação tem impactos no fenótipo do animal voltado para a carne, porém há muitos outros mecanismos envolvidos na manifestação de uma característica, e podemos utilizar os estudos para possibilitar a compreensão desses mecanismos mais profundamente, como a biologia molecular, que pode desvendar mais claramente a interação dos nutrientes da mãe com a expressão de diferentes fenótipos dos filhos (AMORIM *et al.*, 2022; CÔNSOLO *et al.*, 2021; WARNER *et al.*, 2021).

2. Hipótese e objetivos

2.1 Hipótese

Diferentes estratégias de suplementação de matrizes bovinas durante a gestação altera o metaboloma da progênie e, conseqüentemente, os fenótipos quali-quantitativos da carne.

2.2 Objetivos gerais

Avaliar a influência da programação fetal na qualidade de carne, no perfil metabolômico do músculo esquelético e da gordura subcutânea de machos Nelore não castrados.

2.2.1 Objetivos Específicos

- Identificar variações nas características de qualidade da carne de machos Nelore submetidos à programação fetal.
- Quantificar os metabólitos do músculo esquelético e da gordura subcutânea no *pos mortem* que estão relacionados com as características de ganho ou qualidade da carne.
- Identificar vias metabólicas de interesse que estão correlacionados com a produção e/ou qualidade de carne nos diferentes tratamentos.

Referências

ABIEC. Beef Report: Perfil da pecuária no BrasilBeefREPORT. [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://www.abiec.com.br/wp-content/uploads/Beef-Report-2022_atualizado_jun2022.pdf>. Acesso em: nov. 2022.

ACNB. ACNB - Associação dos Criadores de Nelore do Brasil. Disponível em: <<http://www.nelore.org.br/>>. Acesso em: 12 fev. 2022.

AMORIM, S. T.; STAFUZZA, N. B.; KLUSKA, S.; PERIPOLLI, E.; PEREIRA, A. S. C.; MULLER DA SILVEIRA, L. F.; DE ALBUQUERQUE, L. G.; BALDI, F. Genome-wide interaction study reveals epistatic interactions for beef lipid-related traits in Nellore cattle. **Animal Genetics**, v. 53, n. 1, p. 35–48, 1 fev. 2022.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE ZEBU. ABCZ. Disponível em: <<http://www.abcz.org.br/>>. Acesso em: 12 fev. 2022.

BARKER, D. J. P. Fetal origins of coronary heart disease. **BMJ**, v. 311, n. 6998, p. 171–174, 15 jul. 1995. Disponível em: <<https://www.bmj.com/content/311/6998/171>>. Acesso em: 2 out. 2021.

CATON, J. S.; CROUSE, M. S.; REYNOLDS, L. P.; NEVILLE, T. L.; DAHLEN, C. R.; WARD, A. K.; SWANSON, K. C. Maternal nutrition and programming of offspring energy requirements. **Translational Animal Science**, v. 3, n. 3, p. 976–990, 1 jun. 2019.

CEZAR, I. M.; QUEIROZ, H. P.; S. THIAGO, L. R. L. de; CASSALES, F. L. G.; COSTA, F. P. Sistemas de produção de gado de corte no Brasil: uma descrição com ênfase no regime alimentar e no abate. *In*: Campo Grande, MS: Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2005., 2005. p. 1–38.

Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil - CNA. **PIB do Agronegócio alcança participação de 26,6% no PIB brasileiro em 2020**. 2021. Disponível: <<https://www.cnabrazil.org.br/noticias/pib-do-agronegocio-tem-crescimento-recorde-de-24-31-em-2020>>. Acesso em: 21 ago. 2021.

CÔNSOLO, N. R. B.; BUARQUE, V. L. M.; SILVA, J.; POLETI, M. D.; BARBOSA, L. C. G. S.; HIGUERA-PADILLA, A.; GÓMEZ, J. F. M.; COLNAGO, L. A.; GERRARD, D. E.; SARAN NETTO, A.; SILVA, S. L. Muscle and liver metabolomic signatures associated with residual feed intake in Nellore cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 271, p. 114757, 1 jan. 2021.

COSTA, T. C.; GIONBELLI, M. P.; DUARTE, M. de S. Fetal programming in ruminant animals: understanding the skeletal muscle development to improve meat quality. **Animal Frontiers**, v. 11, n. 6, p. 66–73, 17 dez. 2021.

DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; ZERVOUDAKIS, J. T.; CECON, P. R.; DE CAMPOS VALADARES FILHO, S.; GONÇALVES, L. C.; DA SILVA CABRAL, L.; MELO, A. J. N. Níveis de proteína bruta em suplementos múltiplos para terminação de novilhos mestiços em pastejo durante a época seca: desempenho produtivo e características de carcaça. **Revista**

Brasileira de Zootecnia, v. 33, n. 1, p. 169–180, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/rbz/a/vd7RP8KxzSYczjgk4mRRqry/?lang=pt&format=html>>. Acesso em: set. 2022.

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. suppl_13, p. E51–E60, 1 abr. 2010.

DU, M.; YIN, J.; ZHU, M. J. Cellular signaling pathways regulating the initial stage of adipogenesis and marbling of skeletal muscle. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 103–109, 1 set. 2010.

DU, M.; ZHAO, J. X.; YAN, X.; HUANG, Y.; NICODEMUS, L. V.; YUE, W.; MCCORMICK, R. J.; ZHU, M. J. Fetal muscle development, mesenchymal multipotent cell differentiation, and associated signaling pathways,. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 2, p. 583–590, 1 fev. 2011.

FAO. The future of food and agriculture: Trends and challenges. Rome: [s.n.], 2017.

FUNSTON, R. N.; SUMMERS, A. F. Effect of Prenatal Programming on Heifer Development. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 29, n. 3, p. 517–536, 1 nov. 2013.

GIONBELLI, M. P.; VALADARES FILHO, S.; DUARTE, M. Nutritional requirements for pregnant and non-pregnant beef cows. **Nutrient Requirements of Zebu and Crossbred Cattle?**.(Eds SC Valadares Filho, LFC Costa e Silva, MP Gionbelli, PP Rotta, MI Marcondes, ML Chizzotti, LF Prados.) pp, p. 251–272, 2016.

HOFFMANN, A.; MORAES, E. H. B. K. de; MOUSQUER, C. J.; SIMIONI, T. A.; GOMER, F. J.; FERREIRA, V. B.; SILVA, H. M. da. PRODUÇÃO DE BOVINOS DE CORTE NO SISTEMA DE PASTO-SUPLEMENTO NO PERÍODO DA SECA. **Nativa**, v. 2, n. 2, p. 119–130, 26 jun. 2014. Disponível em: <<https://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/nativa/article/view/1298>>. Acesso em: jan. 2022.

IPEA - Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Carta Conjuntura. 2022. Disponível em: <<https://www.ipea.gov.br/cartadeconjuntura/index.php/2022/11/>>. Acesso em: nov. 2022.

LANDAU, ELENA CHARLOTTE; SIMEÃO, R. M.; MATOS NETO, F. da C. Evolução da Área Ocupada por Pastagens. *In: Dinâmica da Produção Agropecuária e da Paisagem Natural no Brasil nas Últimas Décadas comparado*. [s.l: s.n.]p. 1555–1578.

LIMA, P. R. M.; PERIPOLLI, V.; DA SILVA, L. O. C.; MCMANUS, C. Spatial distribution of genetic values of Nelore breed in Brazil. **Livestock Science**, v. 250, p. 104599, 1 ago. 2021.

MCCOSKI, S.; BRADBERRY, A.; MARQUES, R. da S.; POSBERGH, C.; SANFORD, C. Maternal Nutrition and Developmental Programming of Male Progeny. **Animals 2021, Vol. 11, Page 2216**, v. 11, n. 8, p. 2216, 27 jul. 2021.

MCMANUS, C.; BARCELLOS, J. O. J.; FORMENTON, B. K.; HERMUCHE, P. M.; DE

CARVALHO, O. A.; GUIMARÃES, R.; GIANEZINI, M.; DIAS, E. A.; DO NASCIMENTO LAMPERT, V.; ZAGO, D.; NETO, J. B. Dynamics of Cattle Production in Brazil. **PLOS ONE**, v. 11, n. 1, p. e0147138, 1 jan. 2016.

MEHRABI, Z.; GILL, M.; VAN WIJK, M.; HERRERO, M.; RAMANKUTTY, N. Livestock policy for sustainable development. **Nature Food** 2020 **1:3**, v. 1, n. 3, p. 160–165, 17 mar. 2020.

MICKE, G. C.; SULLIVAN, T. M.; GATFORD, K. L.; OWENS, J. A.; PERRY, V. E. A. Nutrient intake in the bovine during early and mid-gestation causes sex-specific changes in progeny plasma IGF-I, liveweight, height and carcass traits. **Animal Reproduction Science**, v. 121, n. 3–4, p. 208–217, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.05.017>>.

MOREIRA, E. M.; ALÍPIO, J.; NETO, F.; VINICIUS, M.; FERRAZ, D. C.; RODRIGUES, R.; MELLO, C.; ANDRADE, J. D. S.; MOREIRA, G.; RACHELE, V.; NUNES, R. Programação fetal e efeito da suplementação pré-parto sobre o desempenho produtivo e reprodutivo da progênie : Revisão Fetal programming and effect of supplementation pre-partum on productive and reproductive performance of progenie : Review Fetal program. p. 1–7, 2019.

MOUSQUER, C. J.; SIMIONI, T. A. Desempenho reprodutivo de matrizes Nelore Pesquisa científica View project Revisão bibliográfica View project. 2014. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/309445103>>. Acesso em: fev. 2022.

NIMER, E. Clima da região Centro-Oeste. Geografia da região Centro-Oeste. Rio de Janeiro: IBGE, 1977.

PAULINO, M. F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. D. C.; LANA, R. D. P. Soja Grão e Carço de Algodão em Suplementos Múltiplos para Terminação de Bovinos Mestiços em Pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 1 SUPPL., p. 484–491, jan. 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/j/rbz/a/53wfnpGDxbxgrWs5nZHFG4C/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: jan. 2022.

PIERRE, F. C.; ABREU, J. MANEJO RACIONAL DE BOVINOS DE CORTE. **Tekhne e Logos**, v. 8, n. 4, p. 67–80, 15 dez. 2017. Disponível em: <<http://revista.fatecbt.edu.br/index.php/tl/article/view/496>>. Acesso em: fev. 2022.

RAMÍREZ, M.; TESTA, L. M.; LÓPEZ VALIENTE, S.; LATORRE, M. E.; LONG, N. M.; RODRIGUEZ, A. M.; PAVAN, E.; MARESCA, S. Maternal energy status during late gestation: Effects on growth performance, carcass characteristics and meat quality of steers progeny. **Meat Science**, v. 164, n. January, p. 108095, 2020.

ROBINSON, D. L.; CAFÉ, L. M.; GREENWOOD, P. L. Meat Science And Muscle Biology Symposium: Developmental programming in cattle: Consequences for growth, efficiency, carcass, muscle, and beef quality characteristics,. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 3, p. 1428–1442, 1 mar. 2013. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/91/3/1428/4717368>>. Acesso em: fev. 2022.

SILVA, M. C. da; BOAVENTURA, V. M.; FIORAVANTI, M. C. S. HISTÓRIA DO POVOAMENTO BOVINO NO BRASIL CENTRAL. **Revista UFG**, v. 13, n. 13, 2012. Disponível em: <<https://revistas.ufg.br/revistaufg/article/view/48451>>. Acesso em: mar. 2022.

WARNER, R.; WHEELER, T. L.; HA, M.; LI, X.; BEKHIT, A. E.-D.; MORTON, J.; VASKOSKA, R.; DUNSHEA, F.; LIU, R.; PURSLOW, P.; ZHANG, W. Meat tenderness: advances in biology, biochemistry, molecular mechanisms and new technologies. **Meat Science**, p. 108657, 14 ago. 2021.

ZHU, M. J.; FORD, S. P.; MEANS, W. J.; HESS, B. W.; NATHANIELSZ, P. W.; DU, M. Maternal nutrient restriction affects properties of skeletal muscle in offspring. **Journal of Physiology**, v. 575, n. 1, p. 241–250, 2006.

Capítulo 1. Programação fetal e seus efeitos na qualidade da carne de touros Nelore

Chapter 1. Fetal programming and its effects on meat quality of Nelore bulls

Arícia Christofaro Fernandes¹, Mariane Beline¹, Guilherme Henrique Gebim Polizel¹, Roberta Cavalcante Cracco¹, Evandro Fernando Ferreira Dias¹, Édison Furlan¹, Saulo da Luz e Silva¹ and Miguel Henrique de Almeida Santana¹

¹Department of Animal Science, College of Animal Science and Food Engineering – USP, Av. Duque de Caxias Norte, 225, Pirassununga, SP, 13635-900, Brazil.

Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da estimulação nutricional pré-natal em diferentes fases da gestação sobre as características de carcaça e qualidade da carne da progênie bovina. Para tanto, foram utilizados 63 novilhos Nelore nascidos de vacas submetidas a três planos nutricionais: Não Programado (NP), que não recebeu suplementação proteica; Parcialmente Programada (PP), que teve suplementação proteico-calórica (0,3% do PV) apenas no terço final da gestação; e Programação Integral (PF), que recebeu suplementação (0,3% do PV) durante toda a gestação. As médias dos parâmetros foram submetidas à ANOVA e os períodos de suplementação foram comparados, os quais foram diferentes quando P valor <0,05. O peso da carcaça e a área de olho de lombo (AOL) não diferiram entre os tratamentos ($p > 0,05$), mas a espessura de gordura subcutânea apresentou tendência ($p = 0,08$) entre os grupos. Para lipídios e marmoreio não foram encontradas diferenças ($p > 0,05$). Nas análises de tempo de maturação e vida de prateleira, não foi observada diferença entre os tratamentos. No entanto, houve interação entre tratamento e tempo de maturação ($p < 0,05$) para perdas de peso por cozimento (CWL) e tendência entre tratamentos aos 14 dias de maturação para CWL ($p = 0,08$). Os tratamentos não afetaram a força de cisalhamento nas progênies ($p > 0,05$). Embora os efeitos da programação fetal durante a gestação não tenham sido pronunciados na qualidade da carne, são necessários mais estudos sobre o desenvolvimento muscular e adiposo.

Palavras-chave: Adiposo, Gado de corte, Nutrição materna, Desenvolvimento muscular, Suplementação pré-natal.

Abstract

This work aimed to evaluate the effects of prenatal nutritional stimulation at different pregnancy stages on carcass traits and meat quality in bovine progeny. For this purpose, 63 Nellore steers born from cows submitted to three nutritional plans were used: Not Programmed (NP), which did not receive protein supplementation; Partially Programmed (PP), which had protein-energy supplementation (0.3% of BW) only in the final third of pregnancy; and Full Programming (FP), which received supplement (0.3% of BW) throughout pregnancy. The averages of parameters were submitted to the ANOVA and the supplementation periods were compared, which were different when P value <0.05 . Carcass weights and rib eye area (REA) did not differ between treatments ($p > 0.05$), but subcutaneous fat thickness showed a tendency ($p = 0.08$) between groups. For lipids and marbling, no differences were found ($p > 0.05$). In the analyses of maturation time and shelf life, no difference was observed between treatments. However, there was an interaction between treatment and maturation time ($p < 0.05$) for cooking weight losses (CWL) and there was a tendency between treatments at 14 days of maturation time for CWL ($p = 0.08$). Treatments did not affect shear force in the progenies ($p > 0.05$). Although the effects of fetal programming during pregnancy were not pronounced on meat quality, further studies on muscle and adipose development are needed.

Key words: Adipose, Beef cattle, Maternal nutrition, Muscle development, Prenatal supplementation.

1. Introduction

Demand for yield and quality of beef cattle has grown worldwide (Greenwood, 2021); however, the beef production cycle shows several bottlenecks (Alemneh & Getabalew, 2019). In beef cattle, the carcass that originates the meat cuts is basically composed of three main tissues: skeletal muscle, adipose tissue, and connective tissue, which ensure meat yield and quality. The formation of these tissues begins during pregnancy and occurs from the processes of myogenesis, adipogenesis, and fibrogenesis (Costa *et al.*, 2021).

These processes concern the differentiation of multipotent cells into muscle fibers, mature adipocytes, and fibroblasts (Uezumi *et al.*, 2010). Therefore, animals can develop and grow through two stages, hyperplasia (increase in cell number) and hypertrophy (increase in cell volume), which are the main aspects responsible for efficiency, quantity, and beef quality at the end of the production cycle (Du *et al.*, 2017).

Regarding muscle tissue, fiber hyperplasia occurs exclusively in the fetal period, while only hypertrophy occurs in postnatal life, which can extend until the end of puberty (Costa *et al.*, 2021). As for adipose and connective tissues, hyperplasia begins in the middle of pregnancy and is not limited to the fetal phase. The hyperplasia occurs until the neonatal phase for visceral fat, until weaning for subcutaneous and intermuscular fat and, finally, the intramuscular fat that increases its cell count until about 250 days of age (Du *et al.*, 2010a; Du *et al.*, 2013). After these periods, the organism only provides for fat accumulation in the respective deposits and fibroblasts accompany the deposition of adipose tissues.

Myogenesis can be divided into primary myogenesis, which occurs in the first two months of pregnancy and is the fiber mold for the secondary myogenesis, which is formed from the 2nd to the 7th month of pregnancy (Greenwood *et al.*, 2009; Oksbjerg & Therkildsen, 2017; Rehfeldt *et al.*, 2004; Stickland *et al.*, 2004). The availability of nutrients that the fetus uses to develop and grow these tissues during pregnancy come exclusively from the mother; therefore, it is necessary to take care with nutrition of the pregnant cow (Vonnahme, 2018). The major concern is that maternal nutrition may not support the complete development of these tissues due to the low availability of food or nutrients consumed/supplied during the months of pregnancy (Funston *et al.*, 2010). This require directing the ingested energy to tissues of greater preference, such as organs and vital systems for survival, thus affecting tissues with less priority, such as skeletal muscle (Bauman *et al.*, 1982; Blair *et al.*, 2021), reducing meat production and quality.

This deficient nutrition on the part of the pregnant cow is largely due to the type of rearing system mostly used for beef cattle worldwide, which involves a continuous pasture system and seasonality of forage systems pose as a challenge to this nutritional mechanism of supply and demand (Silva & Nascimento Júnior, 2007). The challenge faced by the cow during pregnancy, which causes alterations in the progeny, became known as fetal programming. The term fetal programming (FP), or developmental programming, refers to a positive or negative stimulus during pregnancy, promoting a differentiated uterine environment for the growing fetus and altering the developmental trajectory in postnatal life (Barker, 1995).

Thus, to meet the demand of beef consumers, while tackling the nutritional challenges faced by cattle matrices in certain periods of the year, our objective was to investigate the effects of the nutritional stimulus during the gestation of Nellore steers on carcass features and meat quality.

2. Material and methods

2.1 Ethics statement

All procedures were approved by the Committee on Ethics in the Use of Animals of the Faculty of Animal Science and Food Engineering of the University of São Paulo – FZEA/USP (CEUA/FZEA), under protocol No. 1843241117. The care and use of the animals were performed according to the rules of the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA).

2.2 Experimental design

For this study, 126 Nellore cows were initially used, all of which were multiparous and underwent a fixed-time artificial insemination protocol with semen from four Nellore bulls. After confirmation of pregnancy, the cows were assigned to the treatments according to age, body weight (BW), and body condition score measured at the time of insemination to keep the batches as homogeneous as possible, more details can be found at Cracco *et al.* (2021). The cows remained under pasture of the species *Brachiaria brizantha* cv. Marandu throughout the experiment, in a rotational grazing system, with each treatment rotated in three different areas. All cows received a mineral supplement (0.03% average body weight of each batch) and water *ad libitum* during the entire pregnancy. The experiment was performed in a completely randomized design in which the 126 cows were divided into three treatments, namely nutritional plans, which provided or did not provide nutrients to the pregnant cow at

different times. The treatments with energy protein supplement comprised Not Programmed (NP) or Control, which did not receive the supplement, Partially Programmed (PP), which consumed the supplement only in the final third of pregnancy, and Full Programming (FP), which received the supplement throughout pregnancy. Both PP and FP groups received supplement supply daily corresponding to 0.3% of the average body weight of the batch until calving, according to the treatments (More details can be found at Schalch Junior et al. (2022)). After calving, all cows were grouped into a single batch under the same environmental conditions with the same nutritional treatment (mineral supplementation); therefore, the nutritional stimulus was exclusively prenatal. More details about treatments can be found at Schalch Junior *et al.* (2022).

Male offspring of the matrices mentioned above were used to evaluate meat quality traits, more specifically, 63 non-castrated males of the Nellore breed with an average age of 22 months. The males were reared on pasture for 8 months with their mothers and were subsequently submitted to an 11-month rearing period on pasture and supplementation in a trough and following an average of 106 days of finishing in feedlot. From birth to slaughter, all animals were submitted to the same environmental and nutritional conditions (sanitary, management and experimental collection, and feeding). The rearing and fattening were developed under the same pasture system (rotated in *Brachiaria brizantha* cv. Marandu). In the fattening period, the animals received an energy supplement of 0.3% of the average weight of the batch during 6 months and protein supplementation in the 6 months following the rearing period at 0.1% of the average batch weight, until the animals entered the feedlot. More details at Polizel *et al.* (2022).

2.2.1 Carcass ultrasound and slaughter criterion

During the feedlot period, three different diets were formulated, but the same diet was offered to all animals. At the end of 98 days of feedlot, the animals underwent the last collection of material and data. Slaughter occurred every 7 days and, on each day, 21 animals were slaughtered, seven of each treatment. The criterion to select the order of the slaughter groups was the subcutaneous fat thickness (SFT) obtained in the last carcass ultrasound (pre-slaughter) performed by a technician certified by the Ultrasound Guidelines Council (UGC) according to the methodology contained in the Beef Improvement Federation (BIF), between the 12th and 13th ribs. For the ultrasound evaluation, the Aloka SSD-500 ultrasound equipped with a 17.2 cm linear transducer at a frequency of 3.5 MHz (Aloka Co. Ltd., Wallingford, CT, USA) was used. Vegetable oil was used as a coupling to optimize the contact of the

transducer with the animal skin (Santana *et al.*, 2015). From this, an image file was generated that underwent Lince[®] software analysis (M&S Agricultural Consulting Ltd., Pirassununga, SP) to read and generate the measurements. Based on these data, slaughter began with the group of animals with the highest STF in each treatment, followed by the group characterized by average STF, and ending with the group of animals with the lowest STF for the third week of slaughter.

2.3 Slaughter and carcass traits

The animals were slaughtered after a 12-hour fast. At the end of the process, the carcasses were weighed individually (Hot Carcass Weight – HCW), washed and sent to the refrigeration chamber (0-2°C) for 24 hours for the *rigor mortis* process. On the following day, the carcasses were removed from refrigeration and weighed again in the same entry order to observe cooling losses (Cold Carcass Weight – CCW). Subsequently, the sirloin steak (*Longissimus thoracis et lumborum*) was removed from the left half-carcasses for the quality analyses.

In the *Longissimus lumborum* (LL), the rib eye area (REA) and SFT were recorded in the transverse portion of the cut at the level of the penultimate rib (12th) in the cranial direction with an image from a digital camera attached to a support to fix the distance between the equipment and the cut surface, standardizing the analysis. The LEA and SFT traits were evaluated individually in digital images by manual delimitation of the regions of interest using the Lince[®] software (M&S Agricultural Consulting Ltd., Pirassununga, SP). Then, the cut was deboned and cut into 2.5-cm steaks as samples.

2.4 Meat quality analyses

2.4.1 Marbling score

The marbling score was estimated by visual assessment by a single trained evaluator comparing six different degrees (1 = mild; 2 = small; 3 = modest; 4 = moderate; 5 = slightly abundant; 6 = moderately abundant). Within each degree, there were four readings (0, 25, 50, and 75) according to the abundance of intramuscular fat in the samples, where 0 showed the lowest abundance and 75 indicated the highest presence of fat in the sample, as recommended by the United States Department of Agriculture (USDA, 1997). The score was converted into a 24-point numeric scale (6 grades x 4 readings) to enable the statistical analysis of the data generated.

2.4.2 Total intramuscular lipid

Three grams of the sirloin sample were weighed and homogenized in a solution of chloroform: methanol: distilled water (2:1:0.8) using a processor (Mixer Walita Model RI1364 with microprocessor, Phillips do Brazil LTDA, Varginha, Brazil). Then, 1.5% NaCl was added to isolate and determine the lipids by gravimetry, according to the methodology proposed by Bligh & Dyer (1959). Chloroform allows separating the homogenate into two phases, chloroform + lipids, which was subsequently dried in an oven to evaporate the reagent, leaving only the lipid part. To determine the values, all containers were weighed individually before and after applying the methodology and always kept in desiccators to reduce interference from the environment.

2.4.3 Shelf life

For the shelf-life test, a sample of LL (1.5 cm thick) was collected and divided into three similar parts to compose the subsamples (time 0, 3, and 5 days). Subsample 0 was analyzed still in the processing room at deboning (24 hours after slaughter). This test comprises the color and pH readings, according to the method proposed by Vatansever et al. (2000). Samples 3 and 5 were placed on polystyrene trays containing absorbent paper and wrapped in oxygen-permeable film under simulated retail exposure conditions (4°C and 1,000 lux lighting) for further analysis in the laboratory. Before color and pH readings, the subsamples were exposed to the environment (refrigerated display) without the polystyrene cover for 30 min at 4-6°C to allow the reaction of myoglobin with O₂ (blooming). Next, an evaluation of the color was carried out at an approximate temperature of 6-8°C using a portable spectrophotometer, model CM2500d (Konica Minolta Brazil, São Paulo, Brazil) with standard illuminant A, observation angle of 10°, and shutter aperture of 30 mm. Final values of L* (brightness), a* (red intensity), and b* (yellow intensity) of each sample were obtained through the average of three observations at different points of the sample, avoiding points that could interfere with the reading. The pH was measured by a digital meter (Hanna Instruments model HI99163, São Paulo, Brazil), inserted in a random point of the sample with the complete insertion of the crystal according to the CIELab system (CIE, 1986) for the three measurement times (0, 3, and 5 days).

2.4.4 Maturation, cooking losses, and Warner–Bratzler shear force

After collecting the shelf-life samples and maintaining the craniocaudal direction, three more samples (2.5 cm thick steaks) were collected from the sirloin steak, which were individually identified and vacuum packed to be matured for 0, 7, and 14 days. After the

maturation times in a refrigerated chamber (2-5°C), the samples were removed from the vacuum packages and exposed to the environment for 30 min to allow for *blooming*. Then, an objective evaluation of color and pH was carried out according to the CIELab system (CIE, 1986). This methodology was applied for the three maturation times 0, 7, and 14 days.

After the color and pH analysis, the samples were weighed on a precision scale and baked at 170°C in an industrial electric oven (Model F130/L – Golden Arrow Electric Ovens Industry and Commerce Ltd., Sao Paulo, Brazil) equipped with a thermostat. The internal temperature of the steaks was monitored using individual thermometers (Inkbird Tech C.L. - Model IBT-6XS, Smart BBQ thermometer, Shenzhen, China). Upon reaching an internal temperature of 40°C, the samples were turned over and remained in the oven until they reached an internal temperature of 71°C, as recommended by the American Meat Science Association (AMSA, 2015). The samples remained at room temperature until cooling at $\pm 25^\circ\text{C}$, when they were weighed again to determine cooking losses (CWL).

After, the samples were wrapped in plastic film and refrigerated (4-6°C) for 24 hours to start the Warner–Bratzler shear force (WBSF) methodology. Afterward, six cylinders (1.27 cm diameter) were removed from each sample, parallel to the fibers, to determine the WBSF using the TMS-PRO texture analyzer equipment (Food Technology Corporation, Sterling, Virginia, USA) coupled with a Warner–Bratzler shear device with a fixed speed of 200 mm/min (AMSA, 2015). The WBSF of each sample was considered as the average of the repetitions.

2.5 Statistical analysis

The effect of the treatment on the variables studied was evaluated by the analysis of variance (ANOVA), considering the fixed effects of the nutritional treatment of cows (NP, PP, and FP) and the times of analysis, with the day of slaughter as a random effect. The analyses were conducted using the MIXED procedure of SAS software (SAS Institute Inc., Cary, NC). Shelf life, maturation, cooking losses, and shear force were evaluated as repeated measures over time and the interaction between treatment and time was included in the models as a random effect. The covariance matrices were tested for each trait and the best fit was used (Crowder & Hand, 2017). The averages of the treatments were obtained by the LSMeans procedure and when differences occurred between the treatments, they were compared using the Tukey Test with a significance level of 5%, allowing for a tendency when $5\% < P \text{ value} < 10\%$.

3. Results

3.1 Carcass traits

There were no significant differences between treatments for animal carcass traits (REA and SFT); nevertheless, STF tended to be higher in the FP treatment ($P = 0.08$). HCW and CCW were not affected by prenatal nutritional stimuli of males evaluated after slaughter ($P > 0.05$) (Table 1).

3.2 Meat quality

3.2.1 Marbling score and total lipids

The results obtained in the analyzes of total lipids and marbling score were not affected by groups of different prenatal nutritional strategies ($P > 0.05$) (Table 1) for meat marbling scores, although the PP treatment was lower in both analyses.

Table 1. Carcass characteristics, total lipids and marbling score of males supplemented during pregnancy

Traits	Treatments			P-value ¹
	NP	PP	FP	
Hot carcass weight (kg)	348.1 ± 4.61	352.7 ± 4.70	356.1 ± 4.73	0.61
Cold carcass weight (kg)	344.2 ± 6.12	349.3 ± 4.79	353.9 ± 4.81	0.58
REA (cm ²)	97.6 ± 1.05	98.2 ± 0.96	97.4 ± 0.92	0.70
SFT (mm)	7.81 ± 0.28	8.21 ± 0.33	8.69 ± 0.39	0.08
Total lipids (%)	1.79 ± 0.11	1.64 ± 0.08	1.69 ± 0.12	0.47
Marbling score	3.18 ± 0.36	3.17 ± 0.32	4.10 ± 0.35	0.15

¹ - P value between treatments.

3.2.2 pH and Color at Shelf life

The pH and color of the shelf-life analyses did not show significant differences between treatments ($P > 0.05$). However, color components L^* ($P = 0.10$) and b^* ($P = 0.09$) showed a tendency at 24 h after slaughter (D1). The pH, a^* , and b^* , when analyzed over time, showed no statistical difference ($P > 0.05$), although b^* still showed a tendency in the periods when the steaks were analyzed ($P = 0.07$). However, the L^* color component showed a significant difference between shelf-life times ($P < 0.05$). No parameter analyzed in shelf life showed treatment x time interaction ($P > 0.05$) (Table 2).

Table 2. pH and color after shelf life of 1, 3 and 5 days of programmed bulls

Shelf life	Treatments			P-value ¹	P-value ²	P-value ³
	NP	PP	FP			
	<i>pH</i>					
<i>D1</i>	5.59 ± 0.03	5.57 ± 0.03	5.57 ± 0.03	0.89		
<i>D3</i>	5.63 ± 0.02	5.63 ± 0.02	5.62 ± 0.02	0.64	0.61	0.97
<i>D5</i>	5.62 ± 0.02	5.63 ± 0.02	5.62 ± 0.02	0.65		
	<i>L</i>					
<i>D1</i>	41.76 ± 0.35	41.82 ± 0.34	42.90 ± 0.45	0.10		
<i>D3</i>	42.94 ± 0.39	43.12 ± 0.52	43.85 ± 0.41	0.38	0.01*	0.81
<i>D5</i>	42.62 ± 0.44	41.78 ± 0.50	43.31 ± 0.65	0.26		
	<i>a</i>					
<i>D1</i>	24.34 ± 0.30	23.39 ± 0.22	23.90 ± 0.34	0.25		
<i>D3</i>	22.68 ± 0.27	22.59 ± 0.29	22.65 ± 0.34	0.81	0.31	0.80
<i>D5</i>	20.83 ± 0.36	20.70 ± 0.30	21.02 ± 0.52	0.80		
	<i>b</i>					
<i>D1</i>	17.23 ± 0.22	16.30 ± 0.21	16.62 ± 0.28	0.09		
<i>D3</i>	17.80 ± 0.21	17.62 ± 0.20	17.82 ± 0.29	0.57	0.07	0.58
<i>D5</i>	16.72 ± 0.25	16.51 ± 0.23	16.75 ± 0.31	0.75		

¹- P value between treatments; ²- P value on repeated measures over time; ³- P value of the interaction treatment x time; * - statistical difference P<0.05.

3.2.3 pH and color at maturation

With the exception of the *a** color component, which showed a significant difference over time ($P < 0.05$), the other parameters of this analysis did not show statistical differences for treatments and maturation times (Table 3). Moreover, there was no interaction between the effects of animal treatments and the times of the methodology used ($P > 0.05$).

Table 3. pH and color after maturation of 0, 7 and 14 days of programmed bulls

Maturation	Treatments			P-value ¹	P-value ²	P-value ³
	NP	PP	FP			
	<i>pH</i>					
<i>D1</i>	5.68 ± 0.07	5.58 ± 0.03	5.57 ± 0.03	0.41		
<i>D3</i>	5.61 ± 0.02	5.58 ± 0.02	5.59 ± 0.02	0.55	0.45	0.62
<i>D5</i>	5.64 ± 0.02	5.65 ± 0.02	5.64 ± 0.01	0.85		
	<i>L</i>					
<i>D1</i>	42.30 ± 0.42	42.91 ± 0.40	42.70 ± 0.46	0.63		
<i>D3</i>	45.11 ± 0.37	45.00 ± 0.37	45.61 ± 0.42	0.46	0.35	0.75
<i>D5</i>	46.19 ± 0.42	46.00 ± 0.51	46.81 ± 0.41	0.42		
	<i>a</i>					
<i>D1</i>	23.54 ± 0.31	24.14 ± 0.25	23.53 ± 0.32	0.29		
<i>D3</i>	26.11 ± 0.25	26.40 ± 0.22	25.95 ± 0.27	0.14	0.02*	0.97
<i>D5</i>	26.42 ± 0.24	26.75 ± 0.23	26.21 ± 0.30	0.23		
	<i>b</i>					
<i>D1</i>	16.57 ± 0.24	16.87 ± 0.24	16.50 ± 0.32	0.61		
<i>D3</i>	19.20 ± 0.25	19.35 ± 0.22	19.30 ± 0.24	0.45	0.36	0.97
<i>D5</i>	19.69 ± 0.15	19.87 ± 0.20	19.65 ± 0.25	0.67		

¹- P value between treatments; ²- P value on repeated measures over time; ³- P value of the interaction treatment x time; * - statistical difference P<0.05.

3.2.4 Cooking losses and shear force

For the CWL analysis, there was a tendency ($P = 0.08$) for the treatments to differ at time D14, with the FP treatment showed lower losses. The same analysis did not show differences in time, but there was a significant interaction of treatment with the aging times of the steaks ($P < 0.05$) (Table 4), over time, there may be an influence of the treatment on this characteristic. The WBSF evaluations did not show a significant difference between the groups tested. The same result was observed for time and for the time x treatment interaction ($P > 0.05$), showing no influence of fetal programming on tenderness of steaks of the beef samples (Table 4).

Table 4. Cooking losses (%) and Shear force (N) of programmed steers meat

Traits	Treatments			P-value ¹	P-value ²	P-value ³
	NP	PP	FP			
	<i>CWL (%)</i>					
<i>D1</i>	27.67 ± 0.47	27.01 ± 0.51	28.39 ± 0.56	0.13		
<i>D7</i>	29.69 ± 0.43	29.74 ± 0.45	29.06 ± 0.41	0.51	0.41	0.04*
<i>D14</i>	29.81 ± 0.92	31.76 ± 0.74	28.77 ± 0.70	0.08		
	<i>WBSF (N)</i>					
<i>D1</i>	79.11 ± 1.47	77.45 ± 1.81	78.75 ± 2.29	0.51		
<i>D7</i>	63.07 ± 1.40	65.75 ± 1.56	61.45 ± 1.81	0.16	0.31	0.30
<i>D14</i>	56.29 ± 2.05	59.05 ± 1.84	53.94 ± 1.87	0.21		

¹ - P value between treatments; ² - P value on repeated measures over time; ³ - P value of the interaction treatment x time; * - statistical difference P<0.05.

4. Discussion

4.1 Carcass weight and rib eye area

Carcass weight and REA are indicative measures of the animal meat yield and relate mainly to skeletal muscle, the main component of carcasses (Nunes *et al.*, 2015). The muscle fibers that compose the skeletal muscles are formed only during pregnancy, from cell hyperplasia, which indicates the importance of cow nutrition on the fetus potential to develop this tissue, in addition to initiating the hypertrophy, which increases muscle mass (Costa *et al.*, 2021; Zhu *et al.*, 2006). Some studies have analyzed the effects of pregnant cow nutrition on carcass traits of calves, including weight and REA. An antagonism of results can be observed, showing an influence of maternal intake during pregnancy (Marquez *et al.*, 2017; Micke *et al.*, 2010; Mohrhauser *et al.*, 2015; Mossa *et al.*, 2013; Underwood *et al.*, 2010; Wilson *et al.*, 2016) in relation to other results, which found no effect of the nutritional stimulus of mother on the offspring in relation to both traits (Larson *et al.*, 2009; Long *et al.*, 2012; Maresca *et al.*, 2019; Marquez *et al.*, 2017; Micke *et al.*, 2010; Ramírez *et al.*, 2020; Stalker *et al.*, 2006; Wilson *et al.*, 2016; Zago *et al.*, 2020), similar to the results found in our study. Therefore, further studies are needed to understand the mechanism of action of different diets and/or nutrients, which stimulate different responses related to the development

of skeletal muscle tissue. For instance, Marquez *et al.* (2017) evaluated the profile of muscle fibers and reported a difference in the REA and the number of muscle fibers in programmed animals, without changing the BW and the size of fibers. In contrast, Polizel *et al.* (2021) concluded that animals with fetal programming had greater BW without modifying the REA, the number and area of muscle fibers in bovine rearing. This means that similar studies on fetal programming, using supplementation at certain periods of pregnancy, but with different ingredients and nutritional plans, motivated *a priori* greater hyperplasia, as in the case of Marquez *et al.* (2017) and greater hypertrophy in the study by Polizel *et al.* (2021). These findings indicate the plurality of results that maternal nutrition can generate in the offspring.

The absence of significant differences in HCW and CCW shows that the animals also had similar drip losses, maintaining their *post mortem* weights statistically equal. Drip losses are directly linked to the pre-slaughter handling of the animals, carcass temperature when entering the cooling chamber, pH drop in *rigor mortis*, and size and thickness of carcass superficial fat (Savell *et al.*, 2005). All these parameters have an effect on the *rigor mortis* process and can denature proteins and alter the structures of fibers, promoting the shortening of the sarcomere thus forcing the water outflow from the cells (Oksbjerg *et al.*, 2013). The decrease in weight through tissue exudation and superficial evaporation also affects meat quality parameters, such as color, and this fact was also not observed in this work nor by Lugarà *et al.* (2022) and Meale *et al.* (2021).

4.2 Subcutaneous fat thickness

In the partition of nutrients, subcutaneous fat is the second adipose tissue to be developed in the fetal stage, starting around the middle third of gestation and its adipocytes continue to multiply until the beginning of weaning (Du *et al.*, 2013). After this period, the animal only increases the size of these cells, especially in the finishing phase. Subcutaneous fat is very important in the quality meat process, as a minimum thickness is necessary for a protective layer in the carcass cooling process, acting as a thermal insulator and preventing cold shortening of fibers (Sañudo *et al.*, 2000). The minimum thickness required in industries to prevent cold shortening is 3 mm (Gómez *et al.*, 2017; Ribeiro *et al.*, 2004). Although the results for SFT in this work did not show significant differences between treatments, there was a tendency for this trait ($P = 0.08$) and that all treatments had more than the double of the minimum thickness required. Similar to our results, Long *et al.* (2010) reported that matrices

fed only 55% of the requirement indicated in the NRC (1996) did not change the STF of calves, also malnutrition in the initial third did not promote any change in carcass adiposity (Noya *et al.*, 2022). Moreover, there was no difference in the maternal protein restriction during the middle and end of gestation in the STF of the offspring (Maresca *et al.*, 2019), as well as the supplementation of protein sources at the end of pregnancy was not enough to change the SFT of the progeny (Larson *et al.*, 2009; Stalker *et al.*, 2006). In contrast, Underwood *et al.* (2010) observed that matrix nutrition, when improved from mid to late pregnancy, resulted in a greater fat thickness of the 12th rib of steers, also higher protein intake before parturition increases the coverage adipose of offspring (Zago *et al.*, 2020) and when this consumption is above the nutritional requirement of the pregnant cow in the prepartum period, it also increases deposition of subcutaneous fat (Wilson *et al.*, 2016). These discordant results may be related not only to the period, but also to the quality and quantity of the nutrients tested in the studies. In our study, the absence of statistical differences in the traits that indicate adiposity may suggest that the nutritional restriction of the NP treatment or the stimuli of the PP and FP treatments were not enough to trigger changes in the adipogenesis of the tested males.

The nutritional strategies adopted in our study during pregnancy were not sufficient to change the percentage of total lipids and the marbling score of steers. Similar results were reported with no effects of maternal nutrition during early pregnancy (Long *et al.*, 2010), in the middle of pregnancy (Mohrhauser *et al.*, 2015) or even in the middle to the end of pregnancy, from different levels of supplementation, on the intramuscular fat deposition of the progeny (Mulliniks *et al.*, 2013; Shoup *et al.*, 2015; Underwood *et al.*, 2010; Wilson *et al.*, 2016). The presence of intramuscular lipids and the formation of marbling, as well as other body fats (adipogenesis), is basically a consequence of two processes known as hyperplasia, which concerns the formation of fat cells (adipocytes) and hypertrophy, which is the increase in the volume of these cells (Du *et al.*, 2017). The increase in intramuscular fat, which confers the presence of lipids in the meat, and the different marbling degrees are dependent not only on hypertrophy, but mainly on hyperplasia, which allow a greater concentration of cells to distend during the fattening period (Du *et al.*, 2013). Adipogenesis begins during the middle third of gestation, however, multipotent cells, which originate adipocytes, have a priority in tissue differentiation at the time of development and animal growth. This means that first there is the development of visceral fat, followed by the deposition of subcutaneous adipose tissue intermuscular and finally intramuscular fat (Du *et*

al., 2011). Despite the hypothesis that marbling is more efficient in the intrauterine phase (Du *et al.*, 2010b), due to the number of multipotent cells inversely proportional as the age of the animal increases (Du *et al.*, 2010a), other works have shown that, similar to the fetal period, the neonatal period is also efficient in the formation of intramuscular fat, because the priority of cell differentiation decreased in other adipose tissues, which can better direct nutrition toward marbling formation (Du *et al.*, 2015; Du *et al.*, 2010b). This idea of a period of intramuscular adipocyte formation without increasing overall adiposity is called “marbling window”, which comprises the interval from the final third of gestation to approximately 250 days of age (Du *et al.*, 2013; Du *et al.*, 2017). Therefore, the animal has almost $\frac{3}{4}$ of its potential for intramuscular fat formation after birth, in which the nutrition from breastfeeding is possibly responsible for this deposition, corroborating with Liang *et al.* (2016) who reported that super nutrition of mother mice during lactation promoted the development of adipose tissue in the offspring. The possibility of extra supplementation (creep feeding) could have more effect in promoting subcutaneous fat thickness, when compared to maternal supplementation only in the final period of pregnancy. Therefore, postnatal nutrition, until mid-weaning, is likely to have more impact than fetal programming on marbling formation and lipid presence, since the critical window of intramuscular fat adipogenesis is greater after partum (Bonnet *et al.*, 2010; Du *et al.*, 2013). This shows that the results obtained in this study reflect what was expected regarding the presence of marbling and lipids in the meat of programmed animals.

4.3 pH levels

The pH is a condition that can alter many other traits of meat quality and its variation depends on factors, such as pre-slaughter stress, fat finish, carcass temperature, among others (Fuente-Garcia *et al.*, 2020). Although we did not find significant differences in the pH between treatments or times, the raw values had a similar behavior for both analyses (shelf life and maturation), with the tendency to be higher in the NP treatment in relation to the other groups and smaller over time compared to PP and FP. For both analyses, the pH remained within the range of 5.4 to 5.8, considered adequate for the Nellore breed for a good shelf life of the meat (Mach *et al.*, 2008). Other studies have reported similar results (Alvarenga *et al.*, 2016; Noya *et al.*, 2022); however, Meale *et al.* (2021) observed differences in the carcass pH with higher levels for animals whose mothers received a greater nutritional contribution than the other group during the beginning and middle of pregnancy.

4.4 Meat color

Color is one of the most important factors in meat quality, as it is directly related to the acceptance of the product by the consumer, and it is the first characteristic that the customer evaluates when choosing the meat on the display (Holman & Hopkins, 2021; Savoia *et al.*, 2019). Meat with a brighter/brighter red is preferred by most consumers (Hughes *et al.*, 2017) and its variations are basically determined by the myoglobin behavior (Noya *et al.*, 2022). The presence of myoglobin is related to the type of muscle fiber. Type I fibers are classified as slow contraction, using mainly fat as an energy source and with an aerobic metabolism rich in mitochondria and myoglobin. Type II fibers, on the other hand, are characterized by a high contraction speed, using glucose as an energy source, and poor in myoglobin, which gives the meat more pallor (Listrat *et al.*, 2016). These energy sources in ruminants are obtained through the metabolism of short-chain fatty acids (acetate, propionate, and butyrate), which come from ruminal microbial fermentation from foods rich in carbohydrates and fats (roughage and concentrates). During pregnancy, the nutrients available for the development of the embryo and fetus are generated exclusively by the diet of the mother (Cassar-Malek *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2021); therefore, the formation of muscle tissue of offspring comes from the type of nutrient ingested by the cow. Myogenesis forms type I and type II fibers and occurs only in the fetal phase and from the 2nd to the 7th month of gestation (Du, *et al.*, 2010a; Zhu *et al.*, 2006); thus, the use of food supplements, in addition to pasture, can direct the muscle construction with specific fibers. The results obtained from the reading of the color components L^* and b^* tended to show differences between the groups tested in the shelf-life analyses. For the results over time, the color components L^* (maturation) and a^* (shelf life) showed a difference between days and the component b^* (shelf life) showed a tendency, results that are related to the myoglobin behavior from the presence of oxygen in the environment, expressing the altered color. Nevertheless, it is necessary to evaluate the fibers of these animals to elucidate the effect of cow nutrition on the type of fiber in the muscle. The same non-significant effect of color was also observed by other authors after dietary restriction (Alvarenga *et al.*, 2016; Ithurralde *et al.*, 2019; Mohrhauser *et al.*, 2015; Webb *et al.*, 2019).

4.5 Warner–Bratzler shear force

The average variation of WBSF of the treatments, evaluated in the three times (D1, D7, and D14) was from 53.94 to 79.11 N, that is, regardless of the treatment and maturation period, all treatments produced on average progenies with steaks that could not be certified as

tender, as WBSF values above 45N are commonly observed in Zebu breeds (Bonin *et al.*, 2020). Even without significant differences between treatments, the shear force was lower over time for all groups. This result was expected due to the action of proteolytic enzymes on the fiber structures, degrading them and increasing softness, after the maturation times (Contreras-Castillo *et al.*, 2016; Devine *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2018; Ouali *et al.*, 2013). Alvarenga *et al.* (2016) found the same non-significant results for shear force in bulls that underwent protein restriction during their prenatal phase. In contrast, Underwood *et al.* (2010) found a lower WBSF in offspring of mothers who consumed better pastures in relation to the matrices fed with native pasture. The importance of fetal programming based on maternal supplementation on meat tenderness is observed in the preparation the animals for a shorter production cycle, making these individuals reach slaughter time younger with good muscle development, with presence of marbling, and with a good finish of subcutaneous fat. These factors are decisive for meat with lower WBSF values, since young animals have less collagen and more thermo-soluble collagen compared to older animals (Costa *et al.*, 2021; Underwood *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2019). In addition, nutrition during pregnancy, as already discussed, influences the deposition of subcutaneous and intramuscular fat, which directly affects meat tenderness (Costa *et al.*, 2021).

4.6 Cooking weight losses

Cooking weight losses the liquid content released in the process of heating the meat, which can alter the quality by reducing the nutritional value (leaching of vitamins and minerals), altering texture (juiciness and flavor) and modifying meat composition (protein denaturation and connective tissue solubilization) (Campo *et al.*, 2013; Pathare & Roskilly, 2016; Tornberg, 2005). Both CWL and WBSF are influenced by the reduction in pH in the *rigor mortis* process, due to the alteration of enzymatic reactions that degrade muscle fiber structures, reducing the meat water retention capacity. In addition, the heat treatment can denature water-bound proteins, increasing the exudation rate. The maturation process also contributes to the increase of CWL, as proteolysis continues over time (Vergara & Gallego, 1999). The temperature and cooking time are determinant in the percentage of liquid lost (García-Segovia *et al.*, 2007); therefore, animals with a greater amount of collagen (older animals) have a greater stability of the collagen molecule, requiring greater heat treatment to break down this molecule. A stable structure is less thermo-soluble thus they need higher temperatures and cooking times to reach tenderness resulting from food preparation, causing greater losses (Naqvi *et al.*, 2021). In general, beef shows a CWL range between 13.1% and

34.54% (Muchenje *et al.*, 2009) and the Nellore breed has meat with lower CWL rates (Maggioni *et al.*, 2012). In this work, we found average CWL values from 27.01 to 31.76, which are consistent with what was expected for beef. The results showed a tendency between treatments ($P = 0.08$) and an interaction between treatments and aging times to which the steaks were submitted, indicating possible differences between the groups with longer maturation times, requiring further studies to corroborate this conclusion. Alvarenga *et al.* (2016) found no differences in CWL in bulls whose mothers were fed high or low protein prior to conception and/or in the first trimester of their pregnancies. However, Robinson *et al.* (2013) conducted a review of studies on the effects of fetal programming and maternal nutrition and found the influence of age and gender on cooking losses. This result was also found by Ithurralde *et al.* (2021), in which maternal malnutrition had an effect on the muscle of lambs with increased losses in the *Semitendinosus* muscle of males.

5. Conclusion

In this study, prenatal nutritional stimulation led to limited effects on muscle development and carcass traits in Nellore cattle. Although, the effects of maternal nutrition on meat quality traits were mild, scientific evidence shows the interference of nutrient intake by mothers in the control of myogenesis and adipogenesis of offspring. In addition, the antagonism of the results found in the literature is related to the level of restriction or the supply of nutrients and the specificity of the nutrient used. Furthermore, cows mobilized their reserves to meet the demands of the fetuses, preventing the absence of nutrients for fetal development in the treatment without supplementation. In any case, more investigations are needed on the metabolism of these nutrients in the muscle and adipose composition of programmed animals.

References

- Alemneh, T., & Getabalew, M. (2019). SM Gr up International Journal of Factors Influencing the Growth and. International Journal of Animal Science, 3(3), 1048.
- Alvarenga, T. I. R. C., Copping, K. J., Han, X., Clayton, E. H., Meyer, R. J., Rodgers, R. J.,

- McMillen, I. C., Perry, V. E. A., & Geesink, G. (2016). The influence of peri-conception and first trimester dietary restriction of protein in cattle on meat quality traits of entire male progeny. *Meat Science*, 121, 141–147. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2016.06.006>
- AMSA. Research guidelines for cookery, sensory evaluation, and instrumental tenderness measurements of meat. (2015). 2. ed. Champaign, Illinois: American Meat Science Association.
- Barker, D. J. P. (1995). Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ*, 311(6998), 171–174. <https://doi.org/10.1136/BMJ.311.6998.171>
- Bauman, D. E., Eisemann, J. H., & Currie, W. B. (1982). Hormonal effects on partitioning of nutrients for tissue growth: role of growth hormone and prolactin. *Federation Proceedings*, 41(9), 2538–2544. <https://europepmc.org/article/med/7200916>
- Blair, A. D., Gubbels, E. R., Block, J. J., Olson, K. C., Grubbs, J. K., Underwood, K. R., Blair, A. D., Gubbels, E. R., Block, J. J., Olson, K. C., Grubbs, J. K., & Underwood, K. R. (2021). Maternal Nutrition and Meat Quality of Progeny. *Meat and Muscle Biology*, 5(3), 1–9. <https://doi.org/10.22175/MMB.12990>
- Bligh, E. G. & Dyer, W. J. (1959). Canadian journal of biochemistry and physiology. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917.
- Bonin, M. de N., da Luz e Silva, S., Bünger, L., Ross, D., Dias Feijó, G. L., da Costa Gomes, R., Palma Rennó, F., de Almeida Santana, M. H., Marcondes de Rezende, F., Vinhas Ítavo, L. C., de Novais, F. J., Surita, L. M. A., de Nadai Bonin, M., Filgueira Pereira, M. W., & Ferraz, J. B. S. (2020). Predicting the shear value and intramuscular fat in meat from Nellore cattle using Vis-NIR spectroscopy. *Meat Science*, 163, 108077. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2020.108077>
- Bonnet, M., Cassar-Malek, I., Chilliard, Y., & Picard, B. (2010). Ontogenesis of muscle and adipose tissues and their interactions in ruminants and other species. *Animal*, 4(7), 1093–1109. <https://doi.org/10.1017/S1751731110000601>
- Campo, M. M., Muela, E., Olleta, J. L., Moreno, L. A., Santaliestra-Pasías, A. M., Mesana, M. I., & Sañudo, C. (2013). Influence of cooking method on the nutrient composition of Spanish light lamb. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(2), 185–190. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2013.05.010>
- Cassar-Malek, I., Picard, B., Jurie, C., Listrat, A., Guillomot, M., Chavatte-Palmer, P., & Heyman, Y. (2010). Myogenesis is delayed in bovine fetal clones. *Cellular Reprogramming*, 12(2), 191–201. <https://doi.org/10.1089/CELL.2009.0065/ASSET/IMAGES/LARGE/FIG-7.JPEG>
- CIE, COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ÉCLAIRAGE - CIE. Colorimetry. (1986). 2 ed. Vienna. (CIE publication 15.2)
- Contreras-Castillo, C. J., Lomiwes, D., Wu, G., Frost, D., & Farouk, M. M. (2016). The effect of electrical stimulation on post mortem myofibrillar protein degradation and small heat shock protein kinetics in bull beef. *Meat Science*, 113, 65–72. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2015.11.012>
- Costa, T. C., Gionbelli, M. P., & Duarte, M. de S. (2021). Fetal programming in ruminant animals: understanding the skeletal muscle development to improve meat quality.

- Animal Frontiers, 11(6), 66–73. <https://doi.org/10.1093/AF/VFAB061>
- Cracco, R. C., Bussiman, F. D. O., Polizel, G. H. G., Furlan, É., Garcia, N. P., Poit, D. A. S., ... & Santana, M. H. D. A. (2021). Effects of Maternal Nutrition on Female Offspring Weight Gain and Sexual Development. *Frontiers in Genetics*, 2059. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.737382>
- Crowder, M. J., & Hand, D. J. (2017). Analysis of repeated measures. *Analysis of Repeated Measures*, 5, 1–256. <https://doi.org/10.1201/9781315137421/ANALYSIS-REPEATED-MEASURES-MARTIN-CROWDER-DAVID-HAND>
- Devine, C., Wells, R., Lowe, T., & Waller, J. (2014). Pre-rigor temperature and the relationship between lamb tenderisation, free water production, bound water and dry matter. *Meat Science*, 96(1), 321–326. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2013.07.024>
- Du, M., Ford, S. P., & Zhu, M. J. (2017). Optimizing livestock production efficiency through maternal nutritional management and fetal developmental programming. *Animal Frontiers*, 7(3), 5–11. <https://doi.org/10.2527/af.2017-0122>
- Du, M., Huang, Y., Das, A. K., Yang, Q., Duarte, M. S., Dodson, M. V., & Zhu, M. J. (2013). MEAT SCIENCE AND MUSCLE BIOLOGY SYMPOSIUM: Manipulating mesenchymal progenitor cell differentiation to optimize performance and carcass value of beef cattle. *Journal of Animal Science*, 91(3), 1419–1427. <https://doi.org/10.2527/JAS.2012-5670>
- Du, M., Tong, J., Zhao, J., Underwood, K. R., Zhu, M., Ford, S. P., & Nathanielsz, P. W. (2010a). Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals. *Journal of Animal Science*, 88(suppl_13), E51–E60. <https://doi.org/10.2527/JAS.2009-2311>
- Du, M., Wang, B., Fu, X., Yang, Q., & Zhu, M. J. (2015). Fetal programming in meat production. *Meat Science*, 109, 40–47. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2015.04.010>
- Du, M., Yin, J., & Zhu, M. J. (2010b). Cellular signaling pathways regulating the initial stage of adipogenesis and marbling of skeletal muscle. *Meat Science*, 86(1), 103–109. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2010.04.027>
- Du, M., Zhao, J. X., Yan, X., Huang, Y., Nicodemus, L. V., Yue, W., McCormick, R. J., & Zhu, M. J. (2011). Fetal muscle development, mesenchymal multipotent cell differentiation, and associated signaling pathways. *Journal of Animal Science*, 89(2), 583–590. <https://doi.org/10.2527/JAS.2010-3386>
- Fuente-Garcia, C., Sentandreu, E., Aldai, N., Oliván, M., & Sentandreu, M. Á. (2020). Characterization of the Myofibrillar Proteome as a Way to Better Understand Differences in Bovine Meats Having Different Ultimate pH Values. *PROTEOMICS*, 20(12), 2000012. <https://doi.org/10.1002/PMIC.202000012>
- Funston, R. N., Larson, D. M., & Vonnahme, K. A. (2010). Effects of maternal nutrition on conceptus growth and offspring performance: Implications for beef cattle production. *Journal of Animal Science*, 88(suppl_13), E205–E215. <https://doi.org/10.2527/JAS.2009-2351>
- García-Segovia, P., Andrés-Bello, A., & Martínez-Monzó, J. (2007). Effect of cooking method on mechanical properties, color and structure of beef muscle (M. pectoralis). *Journal of Food Engineering*, 80(3), 813–821.

<https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2006.07.010>

- Gómez, J. F. M., Netto, A. S., Antonelo, D. S., Silva, J., Sene, G. A., Silva, H. B., Dias, N. P., Leme, P. R., Silva, S. L., Gómez, J. F. M., Netto, A. S., Antonelo, D. S., Silva, J., Sene, G. A., Silva, H. B., Dias, N. P., Leme, P. R., & Silva, S. L. (2017). Effects of immunocastration on the performance and meat quality traits of feedlot-finished *Bos indicus* (Nellore) cattle. *Animal Production Science*, 59(1), 183–190. <https://doi.org/10.1071/AN17102>
- Greenwood, P. L., Cafe, L. M., Hearnshaw, H., Hennessy, D. W., & Morris, S. G. (2009). Consequences of prenatal and preweaning growth for yield of beef primal cuts from 30-month-old Piedmontese- and Wagyu-sired cattle. *Animal Production Science*, 49(6), 468–478. <https://doi.org/10.1071/EA08160>
- Greenwood, Paul L. (2021). Review: An overview of beef production from pasture and feedlot globally, as demand for beef and the need for sustainable practices increase. *Animal*, 15, 100295. <https://doi.org/10.1016/J.ANIMAL.2021.100295>
- Holman, B. W. B., & Hopkins, D. L. (2021). The use of conventional laboratory-based methods to predict consumer acceptance of beef and sheep meat: A review. *Meat Science*, 181, 108586. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2021.108586>
- Hughes, J., Clarke, F., Purslow, P., & Warner, R. (2017). High pH in beef longissimus thoracis reduces muscle fibre transverse shrinkage and light scattering which contributes to the dark colour. *Food Research International*, 101, 228–238. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2017.09.003>
- Ithurralde, J., Pérez-Clariget, R., Corrales, F., Fila, D., López-Pérez, Á., Marichal, M. de J., Saadoun, A., & Bielli, A. (2019). Sex-dependent effects of maternal undernutrition on growth performance, carcass characteristics and meat quality of lambs. *Livestock Science*, 221, 105–114. <https://doi.org/10.1016/J.LIVSCI.2019.01.024>
- Ithurralde, J., Pérez-Clariget, R., Saadoun, A., Genovese, P., Cabrera, C., López, Y., Feed, O., & Bielli, A. (2021). Gestational nutrient restriction under extensive grazing conditions: Effects on muscle characteristics and meat quality in heavy lambs. *Meat Science*, 179, 108532. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2021.108532>
- Kim, H. W., Kim, J. H., Seo, J. K., Setyabrata, D., & Kim, Y. H. B. (2018). Effects of aging/freezing sequence and freezing rate on meat quality and oxidative stability of pork loins. *Meat Science*, 139, 162–170. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2018.01.024>
- Larson, D. M., Martin, J. L., Adams, D. C., & Funston, R. N. (2009). Winter grazing system and supplementation during late gestation influence performance of beef cows and steer progeny. *Journal of Animal Science*, 87(3), 1147–1155. <https://doi.org/10.2527/JAS.2008-1323>
- Liang, X., Yang, Q., Zhang, L., Maricelli, J. W., Rodgers, B. D., Zhu, M. J., & Du, M. (2016). Maternal high-fat diet during lactation impairs thermogenic function of brown adipose tissue in offspring mice. *Scientific Reports*, 6(May), 1–12. <https://doi.org/10.1038/srep34345>
- Listrat, A., Lebret, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L., Picard, B., & Bugeon, J. (2016). How muscle structure and composition influence meat and flesh quality. *Scientific World Journal*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3182746>

- Long, N. M., Prado-Cooper, M. J., Krehbiel, C. R., Desilva, U., & Wettemann, R. P. (2010). Effects of nutrient restriction of bovine dams during early gestation on postnatal growth, carcass and organ characteristics, and gene expression in adipose tissue and muscle. *Journal of Animal Science*, 88(10), 3251–3261. <https://doi.org/10.2527/JAS.2009-2512>
- Long, N. M., Tousley, C. B., Underwood, K. R., Paisley, S. I., Means, W. J., Hess, B. W., Du, M., & Ford, S. P. (2012). Effects of early- to mid-gestational undernutrition with or without protein supplementation on offspring growth, carcass characteristics, and adipocyte size in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 90(1), 197–206. <https://doi.org/10.2527/JAS.2011-4237>
- Lugarà, R., Realini, L., Kreuzer, M., & Giller, K. (2022). Effects of maternal high-energy diet and spirulina supplementation in pregnant and lactating sows on performance, quality of carcass and meat, and its fatty acid profile in male and female offspring. *Meat Science*, 187, 108769. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2022.108769>
- Mach, N., Bach, A., Velarde, A., & Devant, M. (2008). Association between animal, transportation, slaughterhouse practices, and meat pH in beef. *Meat Science*, 78(3), 232–238. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2007.06.021>
- Maggioni, D., Do Prado, I. N., Zawadzki, F., Valero, M. V., De Araújo Marques, J., Bridi, A. M., Moletta, J. L., & Dos Santos Abrahão, J. J. (2012). Grupos genéticos e graus de acabamento sobre qualidade da carne de bovinos. *Semina: Ciências Agrárias*, 33(1), 391–402. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n1p391>
- Maresca, S., Valiente, S. L., Rodriguez, A. M., Testa, L. M., Long, N. M., Quintans, G. I., & Pavan, E. (2019). The influence of protein restriction during mid- to late gestation on beef offspring growth, carcass characteristic and meat quality. *Meat Science*, 153, 103–108. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2019.03.014>
- Marquez, D. C., Paulino, M. F., Rennó, L. N., Villadiego, F. C., Ortega, R. M., Moreno, D. S., Martins, L. S., De Almeida, D. M., Gionbelli, M. P., Manso, M. R., Melo, L. P., Moura, F. H., & Duarte, M. S. (2017). Supplementation of grazing beef cows during gestation as a strategy to improve skeletal muscle development of the offspring. *Animal*, 11(12), 2184–2192. <https://doi.org/10.1017/S1751731117000982>
- Meale, S. J., Ruiz-Sanchez, A. L., Dervishi, E., Roy, B. C., Paradis, F., Juárez, M., Aalhus, J., López-Campos, Das, C., Li, C., Block, H., Colazo, M. G., Straathof, C., Bruce, H. L., & Fitzsimmons, C. (2021). Impact of genetic potential for residual feed intake and diet fed during early- to mid-gestation in beef heifers on carcass characteristics and meat quality attributes of their castrated male offspring. *Meat Science*, 182, 108637. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2021.108637>
- Micke, G. C., Sullivan, T. M., Gatford, K. L., Owens, J. A., & Perry, V. E. A. (2010). Nutrient intake in the bovine during early and mid-gestation causes sex-specific changes in progeny plasma IGF-I, liveweight, height and carcass traits. *Animal Reproduction Science*, 121(3–4), 208–217. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.05.017>
- Mohrhauser, D. A., Taylor, A. R., Underwood, K. R., Pritchard, R. H., Wertz-Lutz, A. E., & Blair, A. D. (2015). The influence of maternal energy status during midgestation on beef offspring carcass characteristics and meat quality. *Journal of Animal Science*, 93(2), 786–793. <https://doi.org/10.2527/JAS.2014-8567>
- Mossa, F., Carter, F., Walsh, S. W., Kenny, D. A., Smith, G. W., Ireland, J. L. H.,

- Hildebrandt, T. B., Lonergan, P., Ireland, J. J., & Evans, A. C. O. (2013). Maternal undernutrition in cows impairs ovarian and cardiovascular systems in their offspring. *Biology of Reproduction*, 88(4), 92–93. <https://doi.org/10.1095/BIOLREPROD.112.107235/2513993>
- Muchenje, V., Dzama, K., Chimonyo, M., Strydom, P. E., Hugo, A., & Raats, J. G. (2009). Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. *Food Chemistry*, 112(2), 279–289. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2008.05.103>
- Mulliniks, J. T., Mathis, C. P., Cox, S. H., & Petersen, M. K. (2013). Supplementation strategy during late gestation alters steer progeny health in the feedlot without affecting cow performance. *Animal Feed Science and Technology*, 185(3–4), 126–132. <https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2013.07.006>
- Naqvi, Z. B., Thomson, P. C., Ha, M., Campbell, M. A., McGill, D. M., Friend, M. A., & Warner, R. D. (2021). Effect of sous vide cooking and ageing on tenderness and water-holding capacity of low-value beef muscles from young and older animals. *Meat Science*, 175, 108435. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2021.108435>
- Noya, A., Ripoll, G., Casasús, I., & Sanz, A. (2022). Long-term effects of early maternal undernutrition on the growth, physiological profiles, carcass and meat quality of male beef offspring. *Research in Veterinary Science*, 142(August 2021), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.10.025>
- NRC. 1996. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Nunes, J. L., Piquerez, M., Pujadas, L., Armstrong, E., Fernández, A., & Lecumberry, F. (2015). Beef quality parameters estimation using ultrasound and color images. *BMC Bioinformatics*, 16(4), 1–12. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-16-S4-S6>
- Oksbjerg, N., Nissen, P. M., Therkildsen, M., Møller, H. S., Larsen, L. B., Andersen, M., & Young, J. F. (2013). Meat Science And Muscle Biology Symposium: In utero nutrition related to fetal development, postnatal performance, and meat quality of pork. *Journal of Animal Science*, 91(3), 1443–1453. <https://doi.org/10.2527/JAS.2012-5849>
- Oksbjerg, N., & Therkildsen, M. (2017). Myogenesis and Muscle Growth and Meat Quality. *New Aspects of Meat Quality*, 33–62. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100593-4.00003-5>
- Ouali, A., Gagaoua, M., Boudida, Y., Becila, S., Boudjellal, A., Herrera-Mendez, C. H., & Sentandreu, M. A. (2013). Biomarkers of meat tenderness: Present knowledge and perspectives in regards to our current understanding of the mechanisms involved. *Meat Science*, 95(4), 854–870. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2013.05.010>
- Pathare, P. B., & Roskilly, A. P. (2016). Quality and Energy Evaluation in Meat Cooking. *Food Engineering Reviews*, 8(4), 435–447. <https://doi.org/10.1007/S12393-016-9143-5>
- Polizel, G. H. G., Cançado, F. A. C. Q., Dias, E. F. F., Fernandes, A. C., Cracco, R. C., Carmona, B. T., Castellar, H. H., Poleti, M. D., & de Almeida Santana, M. H. (2022). Effects of Different Prenatal Nutrition Strategies on the Liver Metabolome of Bulls and Its Correlation with Body and Liver Weight. *Metabolites* 2022, Vol. 12, Page 441, 12(5), 441. <https://doi.org/10.3390/METABO12050441>

- Polizel, G. H. G., de Francisco Strefezzi, R., Cracco, R. C., Fernandes, A. C., Zuca, C. B., Castellar, H. H., Baldin, G. C., & de Almeida Santana, M. H. (2021). Effects of different maternal nutrition approaches on weight gain and on adipose and muscle tissue development of young bulls in the rearing phase. *Tropical Animal Health and Production*, 53(6), 1–9. <https://doi.org/10.1007/S11250-021-02982-Y/FIGURES/1>
- Ramírez, M., Testa, L. M., López Valiente, S., Latorre, M. E., Long, N. M., Rodriguez, A. M., Pavan, E., & Maresca, S. (2020). Maternal energy status during late gestation: Effects on growth performance, carcass characteristics and meat quality of steers progeny. *Meat Science*, 164(January), 108095. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108095>
- Rehfeldt, C., Fiedler, I., & Stickland, N. C. (2004). Number and size of muscle fibres in relation to meat production. *Muscle Development of Livestock Animals: Physiology, Genetics and Meat Quality*, 1–38. <https://doi.org/10.1079/9780851998114.0001>
- Ribeiro, E. L. D. A., Hernandez, J. A., Zanella, E. L., Shimokomaki, M., Prudêncio-Ferreira, S. H., Youssef, E., Ribeiro, H. J. S. S., Bogden, R., & Reeves, J. J. (2004). Growth and carcass characteristics of pasture fed LHRH immunocastrated, castrated and intact *Bos indicus* bulls. *Meat Science*, 68(2), 285–290. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2004.03.008>
- Robinson, D. L., Cafe, L. M., & Greenwood, P. L. (2013). Meat Science And Muscle Biology Symposium: Developmental programming in cattle: Consequences for growth, efficiency, carcass, muscle, and beef quality characteristics. *Journal of Animal Science*, 91(3), 1428–1442. <https://doi.org/10.2527/JAS.2012-5799>
- Santana, M. H. A., Ventura, R. V., Utsunomiya, Y. T., Neves, H. H. R., Alexandre, P. A., Oliveira Junior, G. A., Gomes, R. C., Bonin, M. N., Coutinho, L. L., Garcia, J. F., Silva, S. L., Fukumasu, H., Leme, P. R., & Ferraz, J. B. S. (2015). A genomewide association mapping study using ultrasound-scanned information identifies potential genomic regions and candidate genes affecting carcass traits in Nellore cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 132(6), 420–427. <https://doi.org/10.1111/JBG.12167>
- Sañudo, C., Alfonso, M., Sánchez, A., Delfa, R., & Teixeira, A. (2000). Carcass and meat quality in light lambs from different fat classes in the EU carcass classification system. *Meat Science*, 56(1), 89–94. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(00\)00026-7](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(00)00026-7)
- Savell, J. W., Mueller, S. L., & Baird, B. E. (2005). The chilling of carcasses. *Meat Science*, 70(3), 449–459. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2004.06.027>
- Savoia, S., Albera, A., Brugiapaglia, A., Di Stasio, L., Cecchinato, A., & Bittante, G. (2019). Heritability and genetic correlations of carcass and meat quality traits in Piemontese young bulls. *Meat Science*, 156, 111–117. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2019.05.024>
- Schalch Junior, F. J., Polizel, G. H. G., Cançado, F. A. C. Q., Fernandes, A. C., Mortari, I., Pires, P. R. L., Fukumasu, H., Santana, M. H. de A., & Saran Netto, A. (2022). Prenatal Supplementation in Beef Cattle and Its Effects on Plasma Metabolome of Dams and Calves. *Metabolites* 2022, Vol. 12, Page 347, 12(4), 347. <https://doi.org/10.3390/METABO12040347>
- Shoup, L. M., Wilson, T. B., González-Peña, D., Ireland, F. A., Rodriguez-Zas, S., Felix, T. L., & Shike, D. W. (2015). Beef cow prepartum supplement level and age at weaning: II.

- Effects of developmental programming on performance and carcass composition of steer progeny. *Journal of Animal Science*, 93(10), 4936–4947. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8565>
- Silva, S. C. da, & Nascimento Júnior, D. do. (2007). Avanços na pesquisa com plantas forrageiras tropicais em pastagens: características morfofisiológicas e manejo do pastejo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36(suppl), 122–138. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007001000014>
- Stalker, L. A., Adams, D. C., Klopfenstein, T. J., Feuz, D. M., & Funston, R. N. (2006). Effects of pre- and postpartum nutrition on reproduction in spring calving cows and calf feedlot performance. *Journal of Animal Science*, 84(9), 2582–2589. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-640>
- Stickland, N. C., Bayol, S., Ashton, C., & Rehfeldt, C. (2004). Manipulation of muscle fibre number during prenatal development. *Muscle Development of Livestock Animals: Physiology, Genetics and Meat Quality*, 69–82. <https://doi.org/10.1079/9780851998114.0069>
- Tornberg, E. (2005). Effects of heat on meat proteins – Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*, 70(3), 493–508. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2004.11.021>
- Uezumi, A., Fukada, S. I., Yamamoto, N., Takeda, S., & Tsuchida, K. (2010). Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle. *Nature Cell Biology*, 12(2), 143–152. <https://doi.org/10.1038/ncb2014>
- Underwood, K. R., Tong, J. F., Price, P. L., Roberts, A. J., Grings, E. E., Hess, B. W., Means, W. J., & Du, M. (2010). Nutrition during mid to late gestation affects growth, adipose tissue deposition, and tenderness in cross-bred beef steers. *Meat Science*, 86(3), 588–593. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2010.04.008>
- USDA. Official United States standards for grades of carcass beef. Livest. (1997). Seed Program, Agric. Market. Serv., Washington, DC
- Vatansever, L., Kurt, E., Enser, M., Nute, G. R., Scollan, N. D., Wood, J. D., & Richardson, R. I. (2000). Shelf life and eating quality of beef from cattle of different breeds given diets differing in n-3 polyunsaturated fatty acid composition. *Animal Science*, 71(3), 471–482. <https://doi.org/10.1017/S135772980005548X>
- Vergara, H., & Gallego, L. (1999). Effect of type of suckling and length of lactation period on carcass and meat quality in intensive lamb production systems. *Meat Science*, 53(3), 211–215. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(99\)00059-5](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(99)00059-5)
- Vonnahme, K. A. (2018). Placental Plasticity: Understanding How Nutrition and Management Alters Uteroplacental Blood Flow. 96(May), 199.
- Webb, M. J., Block, J. J., Funston, R. N., Underwood, K. R., Legako, J. F., Harty, A. A., Salverson, R. R., Olson, K. C., & Blair, A. D. (2019). Influence of maternal protein restriction in primiparous heifers during mid- and/or late-gestation on meat quality and fatty acid profile of progeny. *Meat Science*, 152, 31–37. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2019.02.006>
- Wilson, T. B., Long, N. M., Faulkner, D. B., & Shike, D. W. (2016). Influence of excessive dietary protein intake during late gestation on drylot beef cow performance and progeny

- growth, carcass characteristics, and plasma glucose and insulin concentrations. *Journal of Animal Science*, 94(5), 2035–2046. <https://doi.org/10.2527/JAS.2015-0224>
- Zago, D., Canozzi, M. E. A., & Barcellos, J. O. J. (2020). Pregnant beef cow's nutrition and its effects on postnatal weight and carcass quality of their progeny. *PLoS ONE*, 15(8 August), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237941>
- Zhao, L., Huang, Y., & Du, M. (2019). Farm animals for studying muscle development and metabolism: dual purposes for animal production and human health. *Animal Frontiers*, 9(3), 21–27. <https://doi.org/10.1093/AF/VFZ015>
- Zhu, M. J., Ford, S. P., Means, W. J., Hess, B. W., Nathanielsz, P. W., & Du, M. (2006). Maternal nutrient restriction affects properties of skeletal muscle in offspring. *Journal of Physiology*, 575(1), 241–250. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.112110>

Capítulo 2. Alterações metabolômicas na carne e na gordura subcutânea de bovinos machos submetidos a programação fetal

Chapter 2: Metabolomic changes in meat and subcutaneous fat of male cattle submitted to fetal programming

Arícia Christofaro Fernandes¹, Guilherme Henrique Gebim Polizel¹, Roberta Cavalcante Cracco¹, Fernando Augusto Correia Queiroz Cançado², Geovana Camila Baldin¹, Mirele Daiana Poleti², José Bento Sterman Ferraz² e Miguel Henrique de Almeida Santana¹

¹Departamento de Zootecnia, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo (USP), Av. Duque de Caxias Norte, 225, Pirassununga, SP, 13635-900, Brasil.

²Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo (USP), Av. Duque de Caxias Norte, 225, Pirassununga, SP 13635-900, Brasil.

Resumo

O objetivo desse estudo foi encontrar alterações no metaboloma da carne e da gordura subcutânea e possíveis vias metabólicas relacionadas com a nutrição pré-natal em bovinos de corte. Para tanto, foram utilizados 63 machos não castrados da raça Nelore. Os planos nutricionais durante a gestação desses machos foram: NP – Não Programado ou Controle, que não recebeu suplementação proteico-energética; PP – Parcialmente Programado – com suplementação proteico-energética (0,3% do peso vivo (PV) médio do lote) apenas no terço final de gestação e PC – Programação Completa – que consistiu na suplementação proteico-energética (0,3% do PV médio do lote) durante toda gestação. Amostras de carne e gordura foram coletadas individualmente as 24h após o abate, extraídas e os metabólitos quantificados posteriormente. Os dados obtidos foram submetidos à análise de componentes principais (PCA), análise de variância (ANOVA) e análise de enriquecimento funcional, com nível de significância de 5%. Para a análise de PCA não houve diferença entre os tratamentos testados. Na carne foram 25 metabólitos estatisticamente diferentes entre os tratamentos ($p \leq 0,05$), pertencentes a 4 classes. Já na gordura obteve-se 10 metabólitos significativos ($p \leq 0,05$)

dentro de 2 classes. Na análise de enriquecimento funcional foi possível observar na carne a alteração da via Aminoacil-tRNA ($p = 0,030$). A programação fetal influenciou o metaboloma da carne e da gordura e a via metabólica da Aminoacil-tRNA, o que parece ser um importante processo biológico na carne relacionado com a programação fetal em bovinos de corte.

Palavras-chave: Desenvolvimento muscular e adiposo, Gestação, Metabólitos, Qualidade de carne, Suplementação pré-natal.

Abstract

The aim of this study was to find changes in meat and subcutaneous fat metabolome and possible metabolic pathways related to prenatal nutrition in beef cattle. For this purpose, 18 Nellore steers meat were used and 15 males for fat. The nutritional plans during the gestation of these males were: NP – Not Programmed or Control, which did not receive protein-energetic supplementation; PP – Partially Programmed – with protein-energy supplementation (0.3% of the average body weight (BW) of the flock) only in the final third of pregnancy and FP – Full Programming – which consists of protein-energy supplementation (0.3% of average PV weight of the flock) during the entire pregnancy. Meat and fat samples were collected individually 24 hours after slaughter, extracted and the metabolites quantified later. The data obtained were examined through principal component analysis (PCA), analysis of variance (ANOVA) and functional enrichment analysis, with a significance level of 5%. In meat, 25 metabolites were statistically different between treatments ($p \leq 0.05$), belonging to 4 classes. In the fat, 10 significant metabolites ($p \leq 0.05$) were obtained within 2 classes. In the functional enrichment analysis, it was possible to observe alterations in the Aminoacyl-tRNA pathway in meat ($p = 0.030$). As for the PCA analysis, there was no difference between the tested treatments. Fetal programming influenced the meat and fat metabolome and the aminoacyl-tRNA metabolic pathway, which appears to be an important biological process in meat related to fetal programming in beef cattle.

Keywords: Meat quality, Metabolites, Muscular and adipose development, Pregnancy, Prenatal supplementation.

1. Introdução

A nutrição animal é um dos fatores ambientais que mais podem influenciar o fenótipo, e que os criadores são capazes de manejar com certa facilidade. No entanto, o conhecimento dos fatores fisiológicos internos que controlam a produção, o bem-estar, e a qualidade de seus produtos não são totalmente elucidados (NOWACKA-WOSZUK, 2020). Há diversas lacunas no entendimento do mecanismo de obtenção de certos fenótipos em bovinos de corte. A produção de carne, por exemplo, no seu sentido mais literal e básico é constituída pela formação e crescimento do tecido muscular e adiposo do animal (KAUFFMAN, 2012). Para isso, o indivíduo precisa ter substrato para essa formação, que são oriundos da nutrição e da metabolização de tecidos. Esses tecidos são originados ainda durante a gestação do animal (COSTA; GIONBELLI; DUARTE, 2021). Logo, o aporte de nutrientes pela vaca na gestação é responsável por garantir o aporte adequado nutricional para o desenvolvimento desses tecidos na progênie.

As características de carcaça e qualidade da carne são influenciadas por diversas vias metabólicas, a partir da soma das interações entre genótipo, o meio ambiente e a interação de ambos (EMWAS *et al.*, 2021). O metaboloma é definido como o conjunto completo de pequenas moléculas (metabólitos) que participam do metabolismo (WERNER *et al.*, 2008). Os metabólitos são resultados das interações complexas que ocorrem entre o genoma e o ambiente. A ciência que compreende como esse mecanismo ocorre é a metabolômica. Por isso, o avanço da biologia molecular, e o advento da metabolômica, pôde contribuir com a pesquisa animal e com a compreensão de sistemas biológicos complexos, como a interação de metabólitos e vias resultando em características fenotípicas (MCCOARD; STEVENS; WHITNEY, 2020). Logo, a aplicação da metabolômica vem para identificar e quantificar o metaboloma característico como produtos da formação dos tecidos de interesse, permitindo ganhos em qualidade e quantidade cárnea nos rebanhos (GOLDANSAZ *et al.*, 2017).

Diversos estudos têm relacionado a programação fetal com o desenvolvimento dos tecidos musculares e adiposos (COSTA; GIONBELLI; DUARTE, 2021; DU *et al.*, 2010a, 2011). Contudo, os efeitos metabólicos que a nutrição pré-natal tem sobre as características de carne e carcaça ainda não são explicados (LONG *et al.*, 2021; LOPES *et al.*, 2020; ZHAO; HUANG; DU, 2019). Poucos trabalhos relacionaram a programação fetal com o metabolismo em bovinos de corte, menos ainda quando se trata de metaboloma (POLIZEL *et al.*, 2022; SCHALCH JUNIOR *et al.*, 2022).

Portanto, torna-se fundamental o estudo amplo do metabolismo relacionado com a carne dos bovinos de corte. Sabendo disso, será possível o direcionamento nutricional adequado para a vaca gestante pensando no metabolismo do bezerro antes mesmo do seu nascimento. Pensando nisso, este trabalho objetiva avaliar o metaboloma da carne e da gordura subcutânea de tourinhos submetidos à programação fetal.

2. Material e métodos

Assim como no “Capítulo I” as informações na declaração de ética e o desenho experimental são os mesmos.

2.1 Declaração de ética para o uso de animais na experimentação

Todos os protocolos de experimentação envolvendo estes animais foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (sob o protocolo CEUA nº 1843241117), de acordo com as diretrizes do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).

2.2 Desenho experimental

As atividades de campo foram conduzidas no Departamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP), em Pirassununga/SP, em parceria a Prefeitura do Campus da USP Pirassununga com o apoio logístico, material e pessoal.

Inicialmente 150 matrizes da raça Nelore oriundas do rebanho da FZEA/USP foram selecionadas para o projeto. Essas vacas passaram por protocolo de sincronização de estro e foram inseminadas artificialmente em tempo fixo na estação de monta de 2017/2018. As fêmeas eram multíparas e tinham de 3 a 7 anos de idade (nascidas entre 2010 a 2015), para maiores detalhes consultar (CRACCO *et al.*, 2021). Para a inseminação foi utilizado sêmen de quatro reprodutores também da raça Nelore. Após a confirmação de prenhez aos 30 dias depois da inseminação, 126 vacas prenhes foram selecionadas e distribuídas aleatoriamente nos tratamentos de acordo com a idade, o peso corporal e o escore de condição corporal medidas no momento da inseminação com o intuito de manter os lotes o mais homogêneo possível.

Todas as matrizes permaneceram em piquetes com pastagem da espécie *Brachiaria brizantha* cv. Marandu durante todo o experimento, em sistema de pastejo rotacionado, sendo

cada tratamento rotacionado em três áreas distintas. Nessas áreas foram mensuradas as alturas da forrageira de entrada e saída, estimativa da oferta, morfologia vegetal e análise bromatológica para o controle estimado do consumo forrageiro pelas vacas, para maiores detalhes consultar (SCHALCH JUNIOR *et al.*, 2022). Também foi comum a todas as fêmeas a presença de suplemento mineral, (0,03% peso corporal médio de cada lote) e água *ad libitum* durante toda a gestação.

Cada matriz foi considerada uma unidade experimental e elas foram designadas a um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos, sendo eles estratégias de nutrição pré-natal (ou seja, programação fetal), que consistia no fornecimento de um suplemento proteico energético durante a gestação. Os tratamentos foram: Não Programado ou Controle (NP), foi o tratamento que não recebeu esse suplemento proteico-energético, o tratamento Parcialmente Programado (PP), consumiu o suplemento apenas no terço final da gestação e o tratamento Programação Completa (PC) que foi disponibilizado o suplemento proteico-energético durante toda a gestação. Ambos os grupos PP e PC receberam diariamente conforme seu tratamento 0,3% do peso vivo (PV) médio do lote em oferta de suplemento proteico-energético até o parto. Após a parição elas foram levadas para outros piquetes com seus bezerros e recebiam apenas suplementação mineral, para maiores detalhes consultar (SCHALCH JUNIOR *et al.*, 2022).

Toda a progênie de machos (63 animais) passou 8 meses com a mãe na cria e mais 11 meses na recria em pastagem e suplementação em cocho e seguindo para em média 106 dias de terminação em confinamento. Ao nascer todos os animais receberam os cuidados convencionais (pesagem, cura de umbigo, vermifugação e tatuagem de identificação) e ficaram sob o mesmo sistema de pastagem (rotacionado em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu) até o momento da desmama, em que seguiram para o sistema de rotação na mesma espécie de forragem, porém em dois piquetes e adicionalmente recebendo agora uma suplementação energética de 0,3% do peso médio do lote durante o período de estiagem e uma suplementação proteica de 0,1% do peso médio do lote nas águas durante a recria até a entrada dos animais no confinamento.

Vale ressaltar que todos os animais receberam as mesmas condições sanitárias, nutricionais, de manejo e coleta experimental do nascimento ao abate. Ao chegar nas instalações do confinamento os animais foram divididos em duas baias coletivas de acordo com o peso de entrada. A dieta foi fornecida 2 vezes ao dia (manhã e tarde). Independente da baia foi observado um padrão homogêneo de consumo por todos os animais. Na entrada dos

animais ao confinamento houve protocolo sanitário de vacinação e vermifugação de todos os indivíduos o que garantiu a higidez de todos ao longo do período.

Após o período de confinamento os animais foram abatidos no abatedouro escola da FZEA/USP, localizado aproximadamente 500 metros do confinamento. O abate foi realizado de acordo com os procedimentos humanitários, conforme exigido pela legislação brasileira. O procedimento de abate ocorreu em três grupos, com 21 animais em cada dia de abate. O critério de seleção dos animais para cada grupo de abate foi a espessura de gordura subcutânea (EGS) obtida na última ultrassonografia de carcaça do penúltimo dia de confinamento (pré-abate), como já mencionado. A partir desses dados, os abates iniciaram-se com o grupo de animais de maior EGS em cada tratamento. Após o abate as carcaças foram acondicionadas em câmaras de refrigeração a -4°C a 0°C por 24h.

Os animais utilizados para a metabolômica dos tecidos foram selecionados a partir de uma subamostra dos tratamentos, mais especificadamente 18 machos para a metabolômica da carne, sendo 6 de cada tratamento e para a gordura foram selecionados 15 machos dos 18 animais da carne. Os animais foram selecionados com a premissa de serem filhos do mesmo pai e que a vacas tivessem nascido no mesmo ano para maior homogeneidade.

2.3 Coleta dos tecidos

Para a realização da análise foram utilizadas amostras de dois tecidos, a carne, oriunda do músculo *Longissimus lumborum* e a gordura subcutânea deste mesmo músculo 24h após o abate.

Na sala de desossa, o contrafilé foi separado da carcaça e dispostos para a apreensão do material biológico. Ambos os tecidos foram coletados no momento da desossa e manipulados de forma mais higiênica e rápida possível, sendo acondicionadas em nitrogênio líquido após a aliquotagem, de forma individual em papelotes de alumínio anteriormente autoclavados e identificados. A posição de retirada das amostras da carne foi feita de maneira muito similar entre os animais, no ponto central do corte e da gordura, na face seccionada entre a 12^a e 13^a costela. Com uma pinça e bisturi higienizados e livres de contaminação cruzada, pequenas amostras sem peso definido foram retiradas e armazenadas em ultrafreezer -80°C até o momento da extração.

2.4 Homogeneização de tecidos e extração de metabólitos

No dia da extração essas amostras foram transportadas até o Laboratório de Proteases e Biologia do Câncer do departamento de Biologia Celular, Molecular e Bioagentes

Patogênicos na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, em gelo seco, onde permaneceram durante todo procedimento.

Segundo a metodologia proposta por Zukunft *et al.* (2018) para os tecidos de músculo esquelético e gordura há um solvente específico e uma proporção indicada. No caso do solvente, cada tipo de tecido foi homogeneizado em dois solventes diferentes: tampão fosfato 10 mM pH 7,5 em 25°C e etanol 85/15 (v/v)/10 mM mistura de tampão fosfato pH 7,5 (EtOH/PB). Já para a proporção [mg de tecido para X µL de solvente, denotado por 1:X (p/v)] foi utilizado a proporção 1:3 para o músculo e 1:6 para a gordura.

2.4.1 Preparação do solvente de extração

Para compor o solvente total de extração foram utilizados a mistura dos três reagentes mencionado acima e água. Inicialmente o solvente C composto de 10 ml de 0,1 M tampão fosfato + 90 ml de água (HPLC). Para a formação do solvente A, 15 ml do solvente C foram adicionados a 85 ml de etanol (grau HPLC) formando o solvente específico para a extração de músculo e gordura.

Para a homogeneização, as amostras foram retiradas dos papelotes de alumínio e pesadas, sendo 30 gramas o peso de tecido utilizado para a extração. Em seguida foram colocadas em criotubos pré-resfriados (gelo seco) contendo esferas de cerâmica com diâmetro de 1,4 mm (Precellys Homogenization Kit, CK14, PeqLab Biotechnology, Erlangen, Germany). Posteriormente, foram adicionados a proporção de solvente adequada de cada tecido dentro dos criotubos, sendo 30 g de carne/90 ml de solvente e 30 g gordura/180 ml de solvente.

Após gelar o solvente de extração em freezer a -20°C, este foi acrescentado aos criotubos que estavam com as amostras anteriormente pesadas. Assim, foram então homogeneizados em um homogeneizador Precellys24 equipado com uma unidade de resfriamento integrada (PeqLab Biotechnology, Erlangen, Alemanha) por três vezes em 20 segundos a 5500 rpm com intervalos de 30 segundos para garantir temperaturas constantes durante a homogeneização (ZUKUNFT *et al.*, 2018).

Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 5 min a +4°C para a separação dos metabolitos. O sobrenadante gerado a partir desses procedimentos foi pipetado para um novo frasco e armazenados em -80°C. Para a análise metabolômica foram utilizados 10 µl do sobrenadante.

2.5 Metabolômica direcionada

A empresa Apex Science (Campinas, São Paulo, Brasil) foi responsável pela análise metabolômica. O AbsoluteIDQ ®Kit p180 (Biocrates Life Sciences AG, Innsbruck, Áustria) foi o produto utilizado para a quantificação dos metabólitos. O kit abrange 188 metabólitos, dos quais 21 são aminoácidos, 21 aminas biogênicas, 40 acilcarnitinas (Cx:y), 14 lisofosfatidilcolinas (lisoPC), 76 fosfatidilcolinas (PC) e 15 esfingolipídios (SMx:y). Sendo que “x” representa o número de carbonos e o “y” as ligações duplas de todas as cadeias. Os aminoácidos e aminas biogênicas foram derivatizados usando fenilisotiocianato. Essas classes de metabólitos foram analisadas por espectrometria de massa em *tandem* de cromatografia líquida (HPLC-MS/MS) usando um espectrômetro de massa AB SCIEX 4000 QTrap (AB SCIEX, Darmstadt, Alemanha) com ionização por eletrospray. As lisofosfatidilcolinas, fosfatidilcolinas, acilcarnitinas e hexose foram analisadas por injeção de fluxo-espectrometria de massa em *tandem* (FIA-MS/MS).

Para a realização da análise de dados da quantificação de metabólitos e avaliação de qualidade foi utilizado o software MetIDQ ® v1.0 (parte do kit AbsoluteIDQ ® p180). As concentrações de metabólitos (medidas em µM) foram calculadas usando padrões internos. A empresa Biocrates determina experimentalmente os limites de detecção específicos do metabólito (LOD) do ensaio.

2.6 Análise estatística

O processamento dos dados e a análise univariada (análise de variância; ANOVA) dos metabólitos foram realizados no ambiente de software R (versão 4.1.2). Os metabólitos com mais de 70% das amostras abaixo do LOD ou com os mesmos valores entre as amostras foram removidos do conjunto de dados. Os valores de LOD que permaneceram no metaboloma após a filtragem foram substituídos pela média de cada variável. O modelo foi implementado através da função “LM” no R.

O modelo estatístico utilizado para as análises metabolômicas e fenotípicas dos touros:

$$Y_{jk} = \mu + \beta_1 \text{Idade}_{b1} + \text{Trat}_j + \varepsilon_{jk}$$

Onde, Y_{jk} é o metabólito observado do k-ésimo animal, registrado no j-ésimo tratamento; μ é apenas uma constante; β_1 é o coeficiente de regressão da covariável idade do animal; Idade_{b1} é o valor observado para a idade do animal do k-ésimo animal; Trat_j é o efeito fixo do j-ésimo

tratamento; e ε_{jk} é o termo aleatório residual. Os resíduos foram testados para normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e para homocedasticidade (teste de Levene), e as diferenças entre os tratamentos foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$ pelo teste de Tukey-Kramer.

Além disso, a concentração de metabólitos foi analisada no software MetaboAnalyst 5.0, e os dados foram autodimensionados (centrados na média e divididos pelo desvio padrão de cada variável) antes da análise. Realizamos uma análise de componentes principais (PCA) e uma análise de enriquecimento funcional de vias metabólicas para os metabólitos significativos na carne e na gordura. PCA foi realizada para avaliar os agrupamentos entre os tratamentos (NP, PP e PC). A análise de enriquecimento foi realizada para identificar os processos biológicos mais relevantes associados aos metabólitos expressos diferencialmente (identificados na análise univariada) com base no banco de dados da Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG Pathway) e PubChem (Banco de dados químico aberto no National Institutes of Health (NIH)). Estes bancos de dados permitem encontrar diferentes vias biológicas (por exemplo, metabolismo energético, lipídico, e de aminoácidos) relacionadas à entrada (metabólitos expressos diferencialmente) e a funcionalidade da molécula. Processos biológicos com valor de $p \leq 0,05$ foram considerados significativos.

3. Resultados

3.1 Metabólitos alvos encontrados na carne

Na avaliação das 188 moléculas avaliadas no trabalho, 25 metabólitos foram diferencialmente expressos entre os tratamentos na carne ($p \leq 0,05$). Sendo, 18 metabólitos pertencentes a classe de fosfatidilcolinas; 3 dos aminoácidos, 2 dos esfingolipídios; 1 da amina biogênica e 1 da lisofosfatidilcolina (Tabela 1).

Com relação a classe dos fosfatidilcolinas, os metabólitos [PC aa C26:0; PC aa C34:2; PC aa C38:0 e PC ae C36:2] tiveram uma menor concentração no tratamento PC com relação aos tratamentos NP e PP ($p \leq 0,05$). Em contrapartida, no tratamento PP houve maior concentração em relação ao PC para os seguintes metabólitos também dessa mesma classe: [PC ae C34:2; PC ae C40:1; PC ae C38:5; PC ae C36:5; PC ae C36:1; PC ae C40:6; PC aa C32:2; PC aa C42:0; PC ae C44:6 e PC ae C36:4] ($p \leq 0,05$). Já para os metabólitos [PC ae C34:1; PC aa C34:3; PC ae C32:1 e PC aa C36:2] foi observado menor concentração no tratamento PC em comparação ao tratamento NP ($p \leq 0,05$).

Já na classe dos aminoácidos, a [Treonina ($p = 0,032$) e a Arginina ($p = 0,044$)] foram maiores nos tratamentos (PP e PC), porém a [Alanina ($p = 0,022$)] foi maior em PP apenas, em relação ao NP. Na classe dos esfingolipídios o [SM C18:0 ($p = 0,018$)] foi menor no PC em comparação ao PP e o [SM (OH) C24:1 ($p = 0,024$)] menor no em PC em relação ao NP. Para o metabólito [lisoPC a C26:1 ($p = 0,031$)], pertencente a classe lisofosfatidilcolina, foi encontrado uma menor quantidade em PC, relativamente a NP e PP na carne. E na classe das aminas biogênicas, a [Espermidina ($p = 0,022$)] teve uma maior concentração nos grupos tratados (PP e PC).

Tabela 1. Metabólitos significativos encontrados na carne de machos bovinos suplementados durante a gestação

Metabólitos	NP	PP	PC	p valor ¹
PC aa C26:0	0,65 ± 0,14 ^a	0,78 ± 0,13 ^a	0,36 ± 0,21 ^b	0,003
PC ae C34:2	3,17 ± 1,39 ^{ab}	5,91 ± 2,89 ^a	1,35 ± 1,71 ^b	0,010
PC ae C40:1	0,19 ± 0,13 ^{ab}	0,41 ± 0,18 ^a	0,14 ± 0,18 ^b	0,012
PC ae C34:1	6,33 ± 2,26 ^a	4,70 ± 2,01 ^{ab}	1,62 ± 2,06 ^b	0,013
PC aa C34:2	100,38 ± 60,14 ^a	94,48 ± 33,05 ^a	18,24 ± 26,06 ^b	0,017
PC ae C38:5	3,77 ± 1,87 ^{ab}	5,03 ± 2,51 ^a	1,33 ± 1,82 ^b	0,017
SM C18:0	10,25 ± 4,15 ^{ab}	14,15 ± 3,40 ^a	4,55 ± 5,69 ^b	0,019
Espermidina	0,35 ± 0,09 ^b	0,49 ± 0,13 ^a	0,52 ± 0,06 ^a	0,022
Ala	864,56 ± 118,87 ^b	1061,35 ± 74,07 ^a	981,71 ± 147,33 ^{ab}	0,022
SM (OH) C24:1	0,59 ± 0,17 ^a	0,41 ± 0,16 ^{ab}	0,22 ± 0,24 ^b	0,024
PC ae C36:5	3,77 ± 1,55 ^{ab}	5,35 ± 2,66 ^a	1,58 ± 2,09 ^b	0,025
PC aa C38:0	1,35 ± 0,55 ^a	1,28 ± 0,38 ^a	0,45 ± 0,66 ^b	0,026
PC ae C36:1	9,42 ± 3,51 ^{ab}	11,49 ± 6,88 ^a	2,82 ± 4,13 ^b	0,027
lisoPC a C26:1	0,29 ± 0,13 ^a	0,30 ± 0,10 ^a	0,10 ± 0,15 ^b	0,031
Thr	61,53 ± 9,96 ^b	80,00 ± 10,63 ^a	78,21 ± 11,78 ^a	0,032
PC ae C40:6	1,23 ± 0,56 ^{ab}	1,78 ± 0,79 ^a	0,60 ± 0,88 ^b	0,034
PC aa C32:2	7,42 ± 3,39 ^{ab}	10,42 ± 7,10 ^a	1,91 ± 3,52 ^b	0,035
PC aa C42:0	0,06 ± 0,03 ^{ab}	0,09 ± 0,04 ^a	0,04 ± 0,03 ^b	0,038
PC aa C34:3	8,94 ± 4,69 ^a	7,60 ± 3,76 ^{ab}	2,12 ± 2,97 ^b	0,040
PC ae C32:1	1,89 ± 0,95 ^a	1,60 ± 0,80 ^{ab}	0,48 ± 0,59 ^b	0,040
PC ae C36:2	19,28 ± 11,68 ^a	19,43 ± 5,84 ^a	5,16 ± 8,17 ^b	0,041
PC aa C36:2	288,65 ± 162,68 ^a	180,22 ± 118,81 ^{ab}	64,00 ± 94,01 ^b	0,043
Arg	45,40 ± 11,59 ^b	59,03 ± 8,93 ^a	59,62 ± 9,35 ^a	0,044
PC ae C44:6	0,11 ± 0,04 ^{ab}	0,16 ± 0,05 ^a	0,09 ± 0,04 ^b	0,045
PC ae C36:4	4,66 ± 3,02 ^{ab}	7,54 ± 4,99 ^a	1,29 ± 2,01 ^b	0,049

¹- Valor de p entre os tratamentos.

3.2 Metabólitos alvos encontrados na gordura subcutânea

Na avaliação das 188 moléculas avaliadas no trabalho 10 metabólitos foram diferencialmente expressos entre os tratamentos na gordura subcutânea ($p \leq 0,05$). E esses diferentes metabólitos compreendem 9 na classe de fosfatidilcolinas e 1 na lisofosfatidilcolina (Tabela 2).

Com relação aos metabólitos [PC ae C40:5; PC aa C38:3; PC aa C38:5 e PC aa C40:6] da classe dos fosfatidilcolinas, os valores obtidos do tratamento PC foram superiores ao NP ($p \leq 0,05$). Já para [PC aa C36:0; PC ae C36:0 e PC ae C38:0], o tratamento PC maior em relação ao PP ($p \leq 0,05$). A diferença significativa encontrada para os metabólitos [PC aa C36:1 e PC ae C30:2] foi encontrada na maior concentração de PC em comparação a NP e PP ($p \leq 0,05$).

Na classe do lisofosfatidilcolina, o [lysoPC a C26:1 ($p = 0,029$)] teve sua concentração aumentada no PP em relação do grupo controle (NP), mas não diferiu de PC.

Tabela 2. Metabólitos significativos da gordura subcutânea de machos submetidos a programação fetal

Metabólitos	NP	PP	PC	p valor ¹
PC aa C36:0	2,06 ± 2,89 ^{ab}	1,48 ± 1,01 ^b	7,39 ± 5,11 ^a	0,013
PC ae C40:5	0,87 ± 0,84 ^b	1,19 ± 0,77 ^{ab}	2,32 ± 1,09 ^a	0,016
PC ae C36:0	1,64 ± 2,52 ^{ab}	0,77 ± 0,49 ^b	4,43 ± 2,88 ^a	0,019
PC ae C38:0	1,32 ± 1,51 ^{ab}	1,08 ± 0,64 ^b	3,24 ± 1,55 ^a	0,027
PC aa C38:3	7,23 ± 9,04 ^b	7,83 ± 8,98 ^{ab}	23,52 ± 14,35 ^a	0,031
PC aa C38:5	7,12 ± 8,26 ^b	9,12 ± 8,92 ^{ab}	19,84 ± 12,54 ^a	0,032
PC aa C36:1	43,79 ± 43,77 ^b	35,70 ± 33,50 ^b	143,48 ± 83,53 ^a	0,034
PC ae C30:2	0,40 ± 0,35 ^b	0,41 ± 0,35 ^b	1,11 ± 0,49 ^a	0,042
PC aa C40:6	2,65 ± 3,74 ^b	2,92 ± 3,77 ^{ab}	9,15 ± 8,32 ^a	0,048
lysoPC a C26:1	0,11 ± 0,10 ^b	0,25 ± 0,15 ^a	0,21 ± 0,07 ^{ab}	0,049

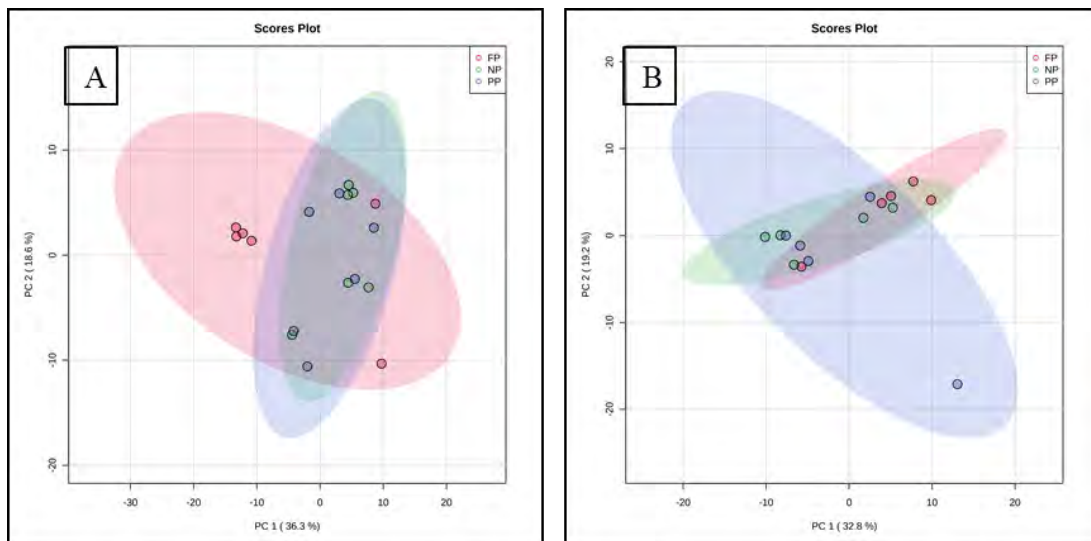
¹- Valor de p entre os tratamentos.

3.4 Análise de Componentes Principais (PCA)

A partir dos resultados encontrados na análise de PCA para os dois tecidos e visualizados na Figura 1a e 1b, é possível observar que não houve diferença entre os tratamentos ($p \geq 0,05$), uma vez que não houve agrupamento dos dados, e esses apresentaram uma sobreposição tanto para carne como para a gordura.

Os dois componentes principais juntos para a carne explicam 54,9% da variância total (PC1 = 36,3%; PC2 = 18,6%), já para a gordura é visto 52,0% da variância total (PC1 = 32,8%; PC2 = 19,2%).

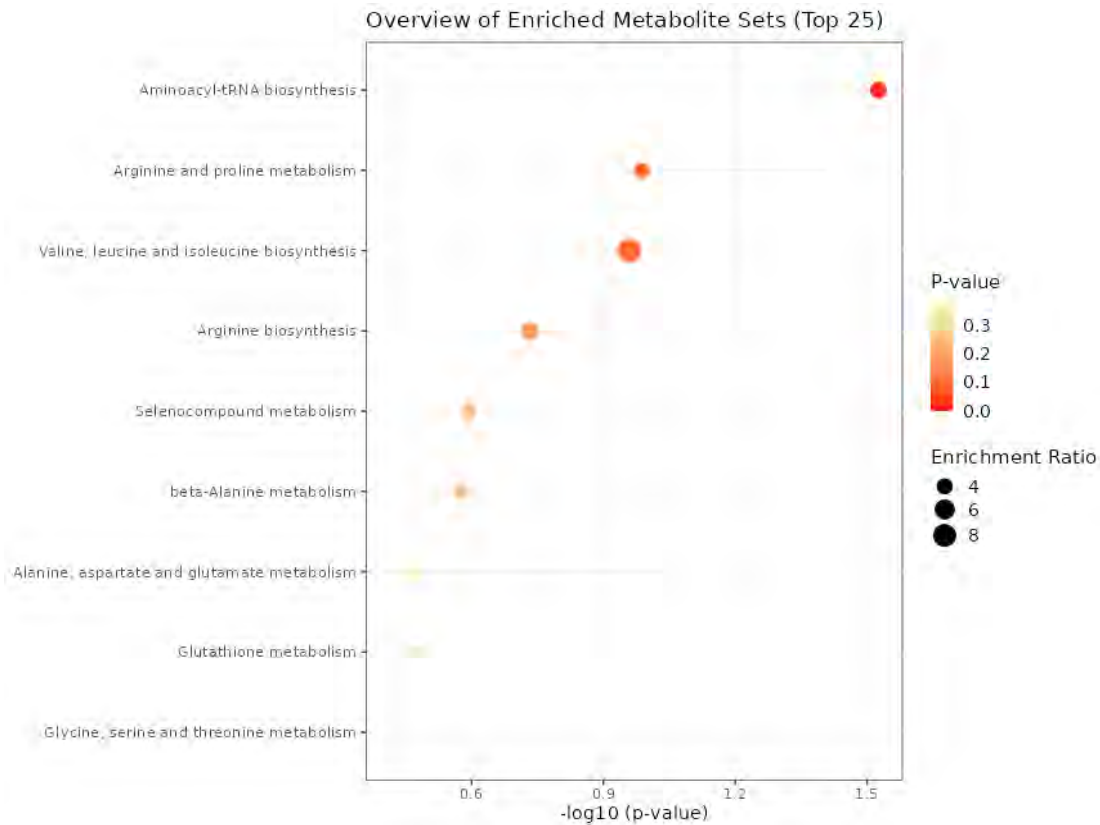
Figura 1. Agrupamento dos componentes principais (PCA) pertencentes ao metaboloma da carne (A) e da gordura subcutânea (B) de machos programados durante a gestação



3.5 Análise de Enriquecimento

A via de Biossíntese de Aminoácil-RNA transportador foi significativa ($p = 0,03$) apenas para metabólitos presentes da carne a partir da análise de enriquecimento funcional dos dados de concentração metabólica (Figura 2).

Figura 2. Processos metabólicos expressos na carne de machos submetidos a programação fetal (NP, PP e PC)



4. Discussão

Alguns trabalhos já testaram diferentes estratégias alimentares e caracterizaram o metaboloma dos animais de produção, destinados a produção de carne (CARRILLO *et al.*, 2016; CÔNSOLO *et al.*, 2021; DE ZAWADZKI *et al.*, 2017; GANDRA *et al.*, 2020; GÓMEZ *et al.*, 2022; PENG; KIM; LEE, 2020). Porém, poucos trabalhos investigaram as consequências que a nutrição pré-natal causa no metabolismo de suas crias (MARTIN *et al.*, 2019; MUROYA *et al.*, 2021a; POLIZEL *et al.*, 2022; SCHALCH JUNIOR *et al.*, 2022). Para os bovinos de corte, a formação dos músculos e da gordura são fundamentais para produzir uma carne em quantidade e qualidade, que atenda às necessidades do mercado (COSTA; GIONBELLI; DUARTE, 2021; LIU *et al.*, 2022). Entender os mecanismos e os substratos que estão atrás dos processos de formação desses tecidos, se mostra uma interessante estratégia pensando em obter animais e seus produtos de forma mais eficiente, sustentável, produtiva e viável.

Por esse motivo, a inspeção das alterações metabólicas na carne e na sua gordura de cobertura permite entender o mecanismo que pode desencadear certos fenótipos antes mesmo do animal

nascer e prepará-los de modo mais eficiente para um objetivo de produção específico (DU *et al.*, 2010b).

Em nossa pesquisa encontramos três aminoácidos significativos, tanto para a treonina, como para a arginina, que são aminoácidos essenciais, obtivemos uma maior concentração de tais metabólitos nos tratamentos com estímulo nutricional pré-natal, indicando que a suplementação na gestação altera o perfil de Thr e Arg na carne da progênie masculina. Já para o terceiro aminoácido encontrado, Alanina (Ala), que é um aminoácido não-essencial, ou seja, o organismo humano é capaz de sintetizar, encontramos diferença apenas no grupo que recebeu suplementação no terço final de gestação. Corroborando com nossos achados, Kwon *et al.* (2004) encontraram que a restrição alimentar durante toda a gestação provoca a diminuição dos mesmo três aminoácidos citados acima (Thr, Arg e Ala). Com a mesma intenção, Hellmuth *et al.* (2016) encontraram efeitos da restrição nutricional materna em babuínos sobre o metabolismo energético com o aumento da concentração de glicose hepática e diminuição dos níveis plasmáticos dos aminoácidos metionina e treonina, e treonina hepática na prole que passou por restrição.

A classe de esfingolipídios é a segunda maior se tratando de lipídeos de membranas em animais e plantas (RUIZ-CAPILLAS; JIMÉNEZ-COLMENERO, 2010). Os metabólitos SM C18:0 e SM (OH) C24:1, fazem parte de uma subcategoria de esfingolipídios, chamada de esfingomielina. As esfingomielinas participam da proliferação celular, sinalização extra e intracelular, diferenciação celular, autofagia e apoptose, que estão intimamente ligadas a construção e manutenção do músculo (HANNUN; OBEID, 2008). Já do ponto de vista nutricional do alimento a presença de esfingolipídios na carne inibe a carcinogênese do cólon, diminui o colesterol LDL sérico e eleva o HDL, sugerindo que esses metabólitos representam um constituinte “funcional” dos alimentos (FISCHBECK *et al.*, 2009; VESPER *et al.*, 1999). Os resultados encontrados neste trabalho mostram que a suplementação durante toda a gestação (PC) aumentou essa classe de metabólitos em relação ao grupo controle ou à suplementação no terço final de gestação. Nesse sentido, pode-se observar que o estímulo com nutrientes constante na prenhez garante não só para o animal, mas para o consumidor os benefícios desse composto.

Os fosfatidilcolinas e lisofosfatidilcolinas fazem parte da classe de Glicerofosfolipídeos, que é o constituinte principal da membrana mitocondrial, isso significa que quanto mais desses metabólitos forem encontrados na carne ou na gordura, maior a probabilidade de mais mitocôndrias (MUROYA, 2023). Consequentemente poderá haver uma

maior oxidação desses tecidos, haja vista, que a função da mitocôndria é promover a oxidação para obtenção de energia. Logo, o produto cárneo que possui muito glicerofosfolípídeo e permanece exposto no varejo por um tempo maior poderá ter sua qualidade inferior pelo processo de oxidação dos lipídeos e promoção do sabor rancificado (YU *et al.*, 2020). Nossos resultados indicam, de modo geral, a carne com mais glicerofosfolípídeos no tratamento controle, já na gordura subcutânea vemos o inverso com uma presença maior de glicerofosfolípídeos na gordura de animais com estímulo nutricional pré-natal. Assim, como nosso trabalho, Muroya *et al.* (2021) também encontrou alteração na via de expressão do glicerofosfolípídeos no músculo de fetos bovinos a partir da desnutrição durante a gestação.

As aminas biogênicas, como a espermidina, são metabólitos formados por bases nitrogenadas a partir da descarboxilação de aminoácidos livres pela ação microbiana e consideradas antinutricionais (JAIRATH *et al.*, 2015). Essa classe possui dois motivos importantes para o consumidor de carne, já que o alimento pode apresentar variados níveis desse metabólito (RUIZ-CAPILLAS; JIMÉNEZ-COLMENERO, 2010). O risco à saúde devido sua toxicidade e possíveis interações com medicamentos é o primeiro (BARDÓCZ, 1995; SHALABY, 1996). E o segundo motivo se baseia em indicar a qualidade e aceitabilidade do alimento (HALÁSZ *et al.*, 1994). Como o nível de aminas é dependente da ação de bactérias, e que pode ser tóxico a depender, o metabólito pode ser observado para indicar o frescor do alimento, haja vista, que quanto maior a produção de aminas biogênicas, maior a quantidade de microrganismos e mais deteriorado está aquele alimento (STADNIK; DOLATOWSKI, 2010). Além disso, a espermidina, que é categorizada como uma poliamina, pode ser alterada por estímulos fisiológicos ou por inibidores de enzimas metabólicas (CERVELLI *et al.*, 2018). Nosso trabalho indicou que o estímulo nutricional pré-natal das vacas influenciou em uma maior concentração de espermidina na carne dos filhos machos, podendo indicar uma predisposição na piora da qualidade da carne. Em vacas gestantes que passaram por uma restrição nutricional, também foi observado um aumento do precursor da espermidina, muito possivelmente alterando o metabolismo dessa poliamina na prole (MUROYA *et al.*, 2021).

A análise de enriquecimento funcional visa identificar as mudanças na expressão das vias que compõem os processos biológicos, tanto quando são aumentadas, como diminuídas e que estão associadas às respostas fisiológicas do organismo. No presente trabalho, 9 vias metabólicas foram alteradas na carne, no entanto, apenas uma foi alterada entre os tratamentos, com o aumento da expressão na via de biossíntese de Aminoacil-tRNA.

A biossíntese é um processo químico que envolve a produção de diversas moléculas num organismo vivo, como lipídeos, ácidos nucleicos e proteínas, a partir de compostos simples. Os reagentes simples se unem para converter outro composto ou para construir macromoléculas (IJAZ *et al.*, 2022). O processo de união/conversão dessas moléculas é proveniente de vias metabólicas. As vias metabólicas são responsáveis por receber e transmitir substratos para outras reações, logo, são dependentes de outras vias para acontecerem. Já a molécula de Aminoacil-tRNA é uma enzima transportadora que juntamente com os fatores de tradução carregam aminoácidos para os ribossomos, estes farão a incorporação desses aminoácidos em cadeias peptídicas para a formação das proteínas (ZOU *et al.*, 2021).

Sabendo disso, o aumento da via responsável pela Biossíntese de Aminoacil-tRNA se traduz no sentido de que há mais reações acontecendo na carne dos animais dos tratamentos PP e PC para a formação de enzimas Aminoacil-tRNA, o que se mostra positivo, visto que esta última tem a função de propiciar a formação de proteínas, que podem ser variadas, desde de enzimas para a membrana celular, como proteínas que compõe o músculo. O processo se torna ainda mais vantajoso quando a ativação de vias, como essa, acontece durante a gestação, pois o momento de formação e crescimento de novos tecidos acontecem naquele período e podem modular os resultados ao longo da vida do animal (ZHU *et al.*, 2006).

Essas descobertas a partir do uso das novas tecnologias oferecem o potencial para o melhor entendimento dos processos fisiológicos e pode fornecer excelentes avanços na produção de carne bovina como um todo no futuro (ZHANG *et al.*, 2021). O desenvolvimento contínuo de novas tecnologias e métodos para análise de dados complexos, por meio de modelagens e previsão de redes bioquímicas funcionais permite abordar a biologia geral, que combina os dados moleculares, genéticos e ambientais e isso auxilia no entendimento do fenótipo de interesse (SURAVAJHALA; KOGELMAN; KADARMIDEEN, 2016).

5. Conclusão

A programação fetal foi capaz de alterar o metaboloma da carne e da gordura subcutânea da progênie de bovinos de corte. Assim como, foi observado a expressão de via de processos biológicos aumentada. Todos esses indicativos estão intimamente ligados com a qualidade da carne.

Referências

- BARDÓCZ, S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 6, n. 10, p. 341–346, 1 out. 1995.
- CARRILLO, J. A.; HE, Y.; LI, Y.; LIU, J.; ERDMAN, R. A.; SONSTEGARD, T. S.; SONG, J. Integrated metabolomic and transcriptome analyses reveal finishing forage affects metabolic pathways related to beef quality and animal welfare. **Scientific Reports** **2016** **6:1**, v. 6, n. 1, p. 1–16, 17 maio 2016. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/srep25948>>. Acesso em: ago. 2022.
- CERVELLI, M.; LEONETTI, A.; DURANTI, G.; SABATINI, S.; CECI, R.; MARIOTTINI, P. Skeletal Muscle Pathophysiology: The Emerging Role of Spermine Oxidase and Spermidine. **Medical Sciences** **2018**, Vol. 6, Page 14, v. 6, n. 1, p. 14, 14 fev. 2018. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-3271/6/1/14/htm>>. Acesso em: set. 2022.
- CÔNSOLO, N. R. B.; BUARQUE, V. L. M.; SILVA, J.; POLETI, M. D.; BARBOSA, L. C. G. S.; HIGUERA-PADILLA, A.; GÓMEZ, J. F. M.; COLNAGO, L. A.; GERRARD, D. E.; SARAN NETTO, A.; SILVA, S. L. Muscle and liver metabolomic signatures associated with residual feed intake in Nellore cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 271, p. 114757, 1 jan. 2021.
- COSTA, T. C.; GIONBELLI, M. P.; DUARTE, M. de S. Fetal programming in ruminant animals: understanding the skeletal muscle development to improve meat quality. **Animal Frontiers**, v. 11, n. 6, p. 66–73, 17 dez. 2021. Disponível em: <<https://academic.oup.com/af/article/11/6/66/6469032>>. Acesso em: ago. 2022.
- CRACCO, R. C.; BUSSIMAN, F. de O.; POLIZEL, G. H. G.; FURLAN, É.; GARCIA, N. P.; POIT, D. A. S.; PUGLIESI, G.; SANTANA, M. H. de A. Effects of Maternal Nutrition on Female Offspring Weight Gain and Sexual Development. **Frontiers in Genetics**, v. 12, p. 2059, 23 nov. 2021.
- DE ZAWADZKI, A.; ARRIVETTI, L. O. R.; VIDAL, M. P.; CATAI, J. R.; NASSU, R. T.; TULLIO, R. R.; BERNDT, A.; OLIVEIRA, C. R.; FERREIRA, A. G.; NEVES-JUNIOR, L. F.; COLNAGO, L. A.; SKIBSTED, L. H.; CARDOSO, D. R. Mate extract as feed additive for improvement of beef quality. **Food Research International**, v. 99, p. 336–347, 1 set. 2017.
- 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. suppl_13, p. E51–E60, 1 abr. 2010a. Disponível em: <https://academic.oup.com/jas/article/88/suppl_13/E51/4779802>. Acesso em: ago. 2022.
- 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. suppl_13, p. E51–E60, 1 abr. 2010b. Disponível em: <https://academic.oup.com/jas/article/88/suppl_13/E51/4779802>. Acesso em: jul. 2022.
- DU, M.; ZHAO, J. X.; YAN, X.; HUANG, Y.; NICODEMUS, L. V.; YUE, W.; MCCORMICK, R. J.; ZHU, M. J. Fetal muscle development, mesenchymal multipotent cell differentiation, and associated signaling pathways. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 2, p.

583–590, 1 fev. 2011. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/89/2/583/4764316>>. Acesso em: ago. 2022.

EMWAS, A. H. M.; AL-RIFAI, N.; SZCZEPSKI, K.; ALSUHAYMI, S.; RAYYAN, S.; ALMAHASHEER, H.; JAREMKO, M.; BRENNAN, L.; LACHOWICZ, J. I. You are what you eat: Application of metabolomics approaches to advance nutrition research. **Foods**, v. 10, n. 6, p. 1249, 1 jun. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2304-8158/10/6/1249/htm>>. Acesso em: out. 2022.

FISCHBECK, A.; KRÜGER, M.; BLAAS, N.; HUMPF, H. U. Analysis of sphingomyelin in meat based on hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to electrospray ionization-tandem mass spectrometry (HILIC-HPLC-ESI-MS/MS). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 20, p. 9469–9474, 28 out. 2009. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/jf9025376>>. Acesso em: jul. 2022.

GANDRA, J. R.; PEDRINI, C. A.; CÔNSOLO, N. R. B.; ACOSTA, A. P.; SENO, L. O.; BARBOSA, L. C. G. S.; NOIA, I. Z.; BUARQUE, V. L. M.; PADILLA, A. R. H.; COLNAGO, L. A.; GANDRA, E. R. S. Metabolome fingerprints, performance and carcass quality of beef calves supplemented with antibiotic free additive. <https://doi.org/10.1080/10495398.2020.1828095>, v. 33, n. 4, p. 710–722, 2020. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10495398.2020.1828095>>. Acesso em: set. 2022.

GOLDANSAZ, S. A.; GUO, A. C.; SAJED, T.; STEELE, M. A.; PLASTOW, G. S.; WISHART, D. S. Livestock metabolomics and the livestock metabolome: A systematic review. **PLOS ONE**, v. 12, n. 5, p. e0177675, 1 maio 2017. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0177675>>. Acesso em: ago. 2022.

GÓMEZ, J. F. M.; CÔNSOLO, N. R. B.; ANTONELLO, D. S.; BELINE, M.; GAGAOUA, M.; HIGUERA-PADILLA, A.; COLNAGO, L. A.; GERRARD, D. E.; SILVA, S. L. Impact of Cattle Feeding Strategy on the Beef Metabolome. **Metabolites** **2022**, Vol. 12, Page 640, v. 12, n. 7, p. 640, 13 jul. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2218-1989/12/7/640/htm>>. Acesso em: out. 2022.

HALÁSZ, A.; BARÁTH, Á.; SIMON-SARKADI, L.; HOLZAPFEL, W. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. **Trends in Food Science and Technology**, v. 5, n. 2, p. 42–49, 1994.

HANNUN, Y. A.; OBEID, L. M. Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. **Nature Reviews Molecular Cell Biology** **2008** **9:2**, v. 9, n. 2, p. 139–150, fev. 2008. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrm2329>>. Acesso em: out. 2022.

HELLMUTH, C.; UHL, O.; KIRCHBERG, F. F.; HARDER, U.; PEISSNER, W.; KOLETZKO, B.; NATHANIELSZ, P. W. Influence of moderate maternal nutrition restriction on the fetal baboon metabolome at 0.5 and 0.9 gestation. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 26, n. 9, p. 786–796, 1 set. 2016.

IJAZ, M.; ZHANG, D.; HOU, C.; MAHMOOD, M.; HUSSAIN, Z.; ZHENG, X.; LI, X. Changes in postmortem metabolites profile of atypical and typical DFD beef. **Meat Science**, v. 193, p. 108922, 1 nov. 2022.

JAIRATH, G.; SINGH, P. K.; DABUR, R. S.; RANI, M.; CHAUDHARI, M. Biogenic amines in meat and meat products and its public health significance: a review. **Journal of**

Food Science and Technology, v. 52, n. 11, p. 6835–6846, 1 nov. 2015. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-015-1860-x>>. Acesso em: set. 2022.

KAUFFMAN, R. G. Meat Composition. **Handbook of Meat and Meat Processing, Second Edition**, p. 45–61, 1 jan. 2012. Disponível em: <<https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/b11479-7/meat-composition-robert-kauffman>>. Acesso em: set. 2022.

KWON, H.; FORD, S. P.; BAZER, F. W.; SPENCER, T. E.; NATHANIELSZ, P. W.; NIJLAND, M. J.; HESS, B. W.; WU, G. Maternal Nutrient Restriction Reduces Concentrations of Amino Acids and Polyamines in Ovine Maternal and Fetal Plasma and Fetal Fluids. **Biology of Reproduction**, v. 71, n. 3, p. 901–908, 1 set. 2004. Disponível em: <<https://academic.oup.com/biolreprod/article/71/3/901/2667363>>. Acesso em: ago. 2022.

LIU, J.; ELLIES-OURY, M. P.; STOYANCHEV, T.; HOCQUETTE, J. F. Consumer Perception of Beef Quality and How to Control, Improve and Predict It? Focus on Eating Quality. **Foods 2022, Vol. 11, Page 1732**, v. 11, n. 12, p. 1732, 13 jun. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2304-8158/11/12/1732/htm>>. Acesso em: nov. 2022.

LONG, J. M.; TRUBENBACH, L. A.; HOBBS, K. C.; POLETTI, A. E.; STEINHAUSER, C. B.; PRYOR, J. H.; LONG, C. R.; WICKERSHAM, T. A.; SAWYER, J. E.; MILLER, R. K.; CARDOSO, R. C.; SATTERFIELD, M. C. Maternal nutrient restriction in late pregnancy programs postnatal metabolism and pituitary development in beef heifers. **PLOS ONE**, v. 16, n. 4, p. e0249924, 1 abr. 2021. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0249924>>. Acesso em: out. 2022.

LOPES, R. C.; SAMPAIO, C. B.; TRECE, A. S.; TEIXEIRA, P. D.; GIONBELLI, T. R. S.; SANTOS, L. R.; COSTA, T. C.; DUARTE, M. S.; GIONBELLI, M. P. Impacts of protein supplementation during late gestation of beef cows on maternal skeletal muscle and liver tissues metabolism. **Animal**, v. 14, n. 9, p. 1867–1875, 1 jan. 2020.

MARTIN, D. E.; JONES, A. K.; PILLAI, S. M.; HOFFMAN, M. L.; MCFADDEN, K. K.; ZINN, S. A.; GOVONI, K. E.; REED, S. A. Maternal restricted- And overfeeding during gestation result in distinct lipid and amino acid metabolite profiles in the longissimus muscle of the offspring. **Frontiers in Physiology**, v. 10, n. MAY, p. 515, 1 maio 2019.

MCCOARD, S. A.; STEVENS, D. R.; WHITNEY, T. R. Sustainable sheep and goat production through strategic nutritional management and advanced technologies. **Animal Agriculture: Sustainability, Challenges and Innovations**, p. 231–246, 1 jan. 2020.

MUROYA, S. An insight into farm animal skeletal muscle metabolism based on a metabolomics approach. **Meat Science**, v. 195, p. 108995, 1 jan. 2023.

MUROYA, S.; ZHANG, Y.; KINOSHITA, A.; OTOMARU, K.; OSHIMA, K.; GOTOH, Y.; OSHIMA, I.; SANO, M.; ROH, S.; OE, M.; OJIMA, K.; GOTOH, T. Maternal undernutrition during pregnancy alters amino acid metabolism and gene expression associated with energy metabolism and angiogenesis in fetal calf muscle. **Metabolites**, v. 11, n. 9, p. 582, 1 set. 2021a. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2218-1989/11/9/582/htm>>. Acesso em: nov. 2022.

MUROYA, S.; ZHANG, Y.; KINOSHITA, A.; OTOMARU, K.; OSHIMA, K.; GOTOH, Y.; OSHIMA, I.; SANO, M.; ROH, S.; OE, M.; OJIMA, K.; GOTOH, T. Maternal undernutrition during pregnancy alters amino acid metabolism and gene expression associated with energy

metabolism and angiogenesis in fetal calf muscle. **Metabolites**, v. 11, n. 9, p. 582, 1 set. 2021b. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2218-1989/11/9/582/htm>>. Acesso em: nov. 2022.

NOWACKA-WOSZUK, J. Nutrigenomics in livestock—recent advances. **Journal of Applied Genetics**, v. 61, n. 1, p. 93–103, 1 fev. 2020. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13353-019-00522-x>>. Acesso em: set. 2022.

PENG, D. Q.; KIM, S. J.; LEE, H. G. Metabolomics analyses to characterize metabolic alterations in Korean native calves by oral vitamin A supplementation. **Scientific Reports 2020 10:1**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 15 maio 2020. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-020-65023-y>>. Acesso em: out. 2022.

POLIZEL, G. H. G.; CANÇADO, F. A. C. Q.; DIAS, E. F. F.; FERNANDES, A. C.; CRACCO, R. C.; CARMONA, B. T.; CASTELLAR, H. H.; POLETI, M. D.; DE ALMEIDA SANTANA, M. H. Effects of Different Prenatal Nutrition Strategies on the Liver Metabolome of Bulls and Its Correlation with Body and Liver Weight. **Metabolites**, v. 12, n. 5, p. 441, 1 maio 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2218-1989/12/5/441/htm>>. Acesso em: nov. 2022.

RUIZ-CAPILLAS, C.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Biogenic Amines in Meat and Meat Products. <http://dx.doi.org/10.1080/10408690490489341>, v. 44, n. 7–8, p. 489–599, 2010. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408690490489341>>. Acesso em: set. 2022.

SCHALCH JUNIOR, F. J.; POLIZEL, G. H. G.; CANÇADO, F. A. C. Q.; FERNANDES, A. C.; MORTARI, I.; PIRES, P. R. L.; FUKUMASU, H.; SANTANA, M. H. de A.; SARAN NETTO, A. Prenatal Supplementation in Beef Cattle and Its Effects on Plasma Metabolome of Dams and Calves. **Metabolites**, v. 12, n. 4, p. 347, 1 abr. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2218-1989/12/4/347/htm>>. Acesso em: nov. 2022.

SHALABY, A. R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. **Food Research International**, v. 29, n. 7, p. 675–690, out. 1996.

STADNIK, J.; DOLATOWSKI, Z. J. Corresponding author-Adres do korespondencji: Dr inż BIOGENIC AMINES IN MEAT AND FERMENTED MEAT PRODUCTS *. **ACTA Acta Sci. Pol., Technol. Aliment**, v. 9, n. 3, p. 251–263, 2010. Disponível em: <www.food.actapol.net>.

SURAVAJHALA, P.; KOGELMAN, L. J. A.; KADARMIDEEN, H. N. Multi-omic data integration and analysis using systems genomics approaches: methods and applications in animal production, health and welfare. **Genetics Selection Evolution 2016 48:1**, v. 48, n. 1, p. 1–14, 29 abr. 2016. Disponível em: <<https://gsejournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12711-016-0217-x>>. Acesso em: set. 2022.

VESPER, H.; SCHMELZ, E. M.; NIKOLOVA-KARAKASHIAN, M. N.; DILLEHAY, D. L.; LYNCH, D. V.; MERRILL, A. H. Sphingolipids in Food and the Emerging Importance of Sphingolipids to Nutrition. **The Journal of Nutrition**, v. 129, n. 7, p. 1239–1250, 1 jul. 1999. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jn/article/129/7/1239/4722573>>. Acesso em: nov. 2022.

WERNER, E.; HEILIER, J. F.; DUCRUIX, C.; EZAN, E.; JUNOT, C.; TABEL, J. C. Mass spectrometry for the identification of the discriminating signals from metabolomics: Current

- status and future trends. **Journal of Chromatography B**, v. 871, n. 2, p. 143–163, ago. 2008.
- YU, Q.; TIAN, X.; SHAO, L.; LI, X.; DAI, R. Mitochondria changes and metabolome differences of bovine longissimus lumborum and psoas major during 24 h postmortem. **Meat Science**, v. 166, p. 108112, ago. 2020.
- ZHANG, T.; CHEN, C.; XIE, K.; WANG, J.; PAN, Z. Current State of Metabolomics Research in Meat Quality Analysis and Authentication. **Foods** **2021**, Vol. **10**, Page **2388**, v. 10, n. 10, p. 2388, 9 out. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2304-8158/10/10/2388/htm>>. Acesso em: set. 2022.
- ZHAO, L.; HUANG, Y.; DU, M. Farm animals for studying muscle development and metabolism: dual purposes for animal production and human health. **Animal Frontiers**, v. 9, n. 3, p. 21–27, 25 jun. 2019. Disponível em: <<https://academic.oup.com/af/article/9/3/21/5522871>>. Acesso em: nov. 2022.
- ZHU, M. J.; FORD, S. P.; MEANS, W. J.; HESS, B. W.; NATHANIELSZ, P. W.; DU, M. Maternal nutrient restriction affects properties of skeletal muscle in offspring. **The Journal of Physiology**, v. 575, n. 1, p. 241–250, 15 ago. 2006. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1113/jphysiol.2006.112110>>. Acesso em: out. 2022.
- ZOU, Y.; YANG, Y.; FU, X.; HE, X.; LIU, M.; ZONG, T.; LI, X.; HTET AUNG, L.; WANG, Z.; YU, T. The regulatory roles of aminoacyl-tRNA synthetase in cardiovascular disease. **Molecular Therapy - Nucleic Acids**, v. 25, p. 372–387, 3 set. 2021.
- ZUKUNFT, S.; PREHN, C.; RÖHRING, C.; MÖLLER, G.; HRABĚ DE ANGELIS, M.; ADAMSKI, J.; TOKARZ, J. High-throughput extraction and quantification method for targeted metabolomics in murine tissues. **Metabolomics**, v. 14, n. 1, p. 1–12, 1 jan. 2018. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11306-017-1312-x>>. Acesso em: jan 2022.

Conclusão geral

A programação fetal mostrou ter influência sobre o metaboloma da carne e da gordura subcutânea da progênie de machos, a partir da alteração da quantidade de metabólitos obtidos entre os tratamentos, além de estimular a via Aminoacyl-tRNA, porém modificou de maneira sutil as características de qualidade da carne. Os resultados da nutrição materna a nível molecular apresentaram maiores variações entres os tratamentos, o que não foi visto no fenótipo expresso na qualidade da carne. No entanto, houve uma relação dos metabólitos encontrados com as características de qualidade da carne, como visto nas análises de shelf life e metabólitos de oxidação.