UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CAMPUS DE JABOTICABAL

DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DE CARCAÇA, QUALIDADE DA CARNE E PROTEÔMICA DO MÚSCULO DE NOVILHOS F1 ANGUS-NELORE SUPLEMENTADOS EM CREEP FEEDING E CONFINADOS APÓS O DESMAME

Hozane Alves de Souza

Zootecnista

2023

TESE / SOUZA H. A. 2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL

DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DE CARCAÇA, QUALIDADE DA CARNE E PROTEÔMICA DO MÚSCULO DE NOVILHOS F1 ANGUS-NELORE SUPLEMENTADOS EM CREEP FEEDING E CONFINADOS APÓS O DESMAME

Discente: Hozane Alves de Souza
Orientador: Dr. Otávio Rodrigues Machado Neto

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de doutor em Zootecnia.

2023

S729d

Souza, Hozane Alves de
Desempenho, características de carcaça, qualidade da carne e proteômica do músculo de novilhos F1 Angus-Nelore suplementados em Creep Feeding e confinados após o desmame / Hozane Alves de Souza. -- Jaboticabal, 2024
84 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Otavio Rodrigues Machado Neto

1. Creep feeding. 2. Gordura intramuscular. 3. Proteômica. 4. Qualidade da carne. 5. Longissimus thoracis. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DE CARCAÇA, QUALIDADE DA CARNE E PROTEÔMICA DO MÚSCULO DE BOVINOS F1 ANGUS-NELORE SUPLEMENTADOS EM CREEP FEEDING E CONFINADOS APÓS O DESMAME

AUTOR: HOZANE ALVES DE SOUZA

ORIENTADOR: OTAVIO RODRIGUES MACHADO NETO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Zootecnia, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. OTAVIO RODRIGUES MACHADO NETO (Participaçao Virtual)
Departamento de Producao Animal / FMVZ UNESP Botucatu

gov.br Documento assinado digitalmente
OTAVIO RODRIGUES MACHADO NETO
Data: 07/11/2023 [illegible]
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. LUIS ARTUR LOYOLA CHARDULO (Participaçao Virtual)
Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal / FMVZ UNESP Botucatu

Prof. Dr. Luis Artur Loyola Chardulo

gov.br Documento assinado digitalmente
LUIS ARTUR LOYOLA CHARDULO
Data: [illegible]
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Pós-doutorando GERMÁN DARÍO RAMÍREZ ZAMUDIO (Participaçao Virtual)
FZEA USP / Pirassununga/SP

Documento assinado digitalmente
gov.br GERMAN DARIO RAMIREZ ZAMUDIO
Data: 07/11/2023 12:32:56-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. MARCOS ROBERTO CHIARATTI (Participaçao Virtual)
Departamento de Genética e Evolução / Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)

Prof. Dr. Marcos Roberto Chiaratti

Documento assinado digitalmente
gov.br MARCOS ROBERTO CHIARATTI
Data: 07/11/2023 10:07:07-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa.Dra. PRISCILLA DUTRA TEIXEIRA (Participaçao Virtual)
Departamento de Zootecnia / Universidade Federal de Lavras (UFLA) - Lavras/MG

Documento assinado digitalmente
gov.br PRISCILLA DUTRA TEIXEIRA
Data: 14/11/2023 13:35:13-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Jaboticabal, 06 de setembro de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

HOZANE ALVES DE SOUZA, filho de Raimundo Alves de Souza e Nair Sales de Oliveira Alves de Souza, nasceu no dia 1 de maio de 1994 em Terra Nova do Norte - Mato Grosso. Em março de 2012 ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT no *Campus* de Sinop e obteve o título de Bacharel em setembro de 2016. Em março de 2017 iniciou o curso de mestrado no programa de pós-graduação em Zootecnia da UFMT – Sinop e obteve título de Mestre em Zootecnia em 08 de março de 2019. Em agosto de 2019 iniciou o curso de doutorado no programa de pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – Faculdade de Ciências Agrarias e Veterinárias, campus de Jaboticabal sob orientação do Prof. Dr. Otavio Rodrigues Machado Neto.

A minha esposa Flabiele, minha mãe Nair, meu pai Raimundo, meus irmãos e a todos os familiares e amigos, pelo carinho, afeto e dedicação que me proporcionaram durante toda a minha vida, com muita gratidão.

A tudo e a todos que de alguma forma contribuíram para esse momento.

A mim por persistir.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Flabiele Soares que me acompanhou durante todo esse período, por todo apoio e incentivo. Você é muito especial em minha vida.

Aos meus pais, Raimundo e Nair, por toda a dedicação, apoio, carinho, amor, incentivo, e exemplo de vida. Obrigado por TUDO.

Aos meus irmãos, Orlando e Odelan, por toda torcida e incentivo.

À toda minha família, pois tenho certeza de que vocês sempre oraram e intercederam por mim.

Ao Professor Dr. Otávio Rodrigues Machado Neto, pela oportunidade, orientação, conhecimento, paciência e convivência nesse período.

Ao Professor Dr. Welder Baldassini, agradeço muito por todo apoio e ensinamentos, durante todo o projeto.

Aos amigos de Botucatu que me ajudaram nessa jornada. São eles: Richard Vaquero, Lais Tomaz, Bismarck Moreira, Luiz Antônio Fogaça, Jean Galvão, Matheus Rossi, Lucas Rodrigues, Mateus Parra, Isabella Romão, Maria Carolina, Rafaela Rodrigues, Iasmin Calaça, Camila Pereira, Camila Prado, Anderson Kloster.

Ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias pela oportunidade.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias pelos ensinamentos e conhecimento compartilhado nas disciplinas.

A Unesp de Botucatu, Confinamento experimental pela oportunidade de usufruir suas dependências e infraestrutura bem como todos os seus funcionários.

Aos professores da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, pelos ensinamentos e conhecimento compartilhado nas disciplinas.

Ao pesquisador Dr. Germán Darío Ramírez Zamudio pelas contribuições na condução do experimento, nos exames de qualificação e defesa.

Ao professor Dr. Luis Arthur Loyola Chardulo pelas contribuições e ensinamentos no exame de defesa.

Ao professor Dr. Marcos Roberto Chiaratti pelas contribuições e ensinamentos nos exames de qualificação e defesa.

A professora Dra. Priscilla Dutra Teixeira pelas contribuições e ensinamentos nos exames de qualificação e defesa.

Ao Laboratório de Ciência e Qualidade da Carne e Dra. Mirele Daiana Poleti, pela parceria nas análises laboratoriais.

A Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento de parte do projeto, auxílio à pesquisa – regular (Processo: nº2019/22621-3).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) – Processo Nº 140404/2020-1- pelas 27 mensalidades de bolsa.

A Trouw Nutrition pelo financiamento da pesquisa.

A todos que não foram citados, mas que de alguma forma contribuíram para minha formação acadêmica.

Muito obrigado a todos vocês!!!

SUMÁRIO

RESUMO.....iii
ABSTRACT.....iv
1.1 CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS 1
2.1 Introdução 1
Creep feeding 2
Efeitos da alimentação na fase de cria 4
Características de carcaça e qualidade de carne 6
Proteômica aplicada à qualidade de carne 10
3.1 Referências 11
4.1 CAPÍTULO 2 – desempenho e qualidade de carne de novilhos f1 angus-nelore suplementados ou não em creep feeding e confinados após o desmame 23
5.1 introdução 25
6.1 Material e Métodos 26
Animais e delineamento experimental 26
Cria 26
Desmame e terminação 28
Abate e amostragem 30
Composição química e perfil de ácidos graxos da carne 30
Análise econômica 32
Análises estatísticas 32
7.1 Resultados 33
Desempenho e características de carcaça 33
Composição química da carne e perfil de ácidos graxos 34
Avaliação econômica 36
8.1 Discussão 37
Desempenho e características de carcaça 37
Composição química da carne e perfil de ácidos graxos 39
Avaliação econômica 41
9.1 Conclusão 41
10.1 Referências 42

11.1 CAPÍTULO 3 - Maciez e proteômica DO MUSCULO de novilhos f1 angus-nelore suplementados em creep feeding e confinados após o desmame 48

12.1 Introdução 50

13.1 Material e Métodos 51

Animais e delineamento experimental 51

Abate, coleta de amostras e características de carcaça 52

Maturação e analises físicas da carne 53

Proteômica 54

Análises estatísticas 56

14.1 Resultados 57

Desempenho, características de carcaça e qualidade da carne 57

Proteômica 58

15.1 Discussão 76

Composição física da carne 76

Proteoma muscular 77

16.1 Conclusão 79

17.1 Referências 80

DESEMPENHO, CARATERÍSTICAS DE CARCAÇA, QUALIDADE DA CARNE E PROTEÔMICA DO MÚSCULO DE NOVILHOS F1 ANGUS-NELORE SUPLEMENTADOS EM CREEP FEEDING E CONFINADOS APÓS O DESMAME

RESUMO – Nosso objetivo foi investigar o efeito da suplementação em creep feeding sob o desempenho, características de carcaça, qualidade da carne e perfil proteômica do musculo *Longissimus thoracis* de novilhos F1 Angus-Nelore confinados após o desmame. Quarenta e cinco bezerros F1 Angus-Nelore, meio irmãos foram suplementados ou não em creep feeding por 172 dias, desmamados e confinados com uma mesma dieta por 200 dias. Diferenças foram consideradas significativas se P<0.05. A suplementação em creep feeding aumentou o ganho médio diário (0,97 vs. 1,05 kg; P<0,0001) e o peso corporal a desmama (227 vs. 243 kg; P<0,0002) em comparação aos animais não suplementados. Os animais oriundos de creep feeding ganharam mais peso na aclimatação (1,4 vs. 9,9 kg; P<0,0003). O consumo de matéria seca e o ganho médio diário não diferiram, mas o peso corporal final dos animais de creep feeding foi superior (484 vs. 499 kg; P<0,0339). As eficiências alimentar e biológica do grupo controle foram melhores e os animais do grupo creep feeding precisaram ingerir 15.33 kg de matéria seca adicional para produzir 15 kg de carcaça. Essa diferença no confinamento foi de R$73.51 e equivale a 3% de aumento no custo na terminação. A espessura de gordura subcutânea (10,6 vs. 12,5 mm; P<0,0076) e o teor de gordura intramuscular (4,9% vs. 5,8%; P<0,0087) no músculo *Longissimus thoracis* foram maiores em animais de creep feeding comparados aos não suplementados. Novilhos do grupo creep feeding tiveram maiores teores de ácidos graxos saturados, insaturados e monoinsaturados. A força de cisalhamento, pH, variáveis da cor *a**, *b**, *C** e *h** não diferiram entre os grupos experimentais. A carne maturada aos 14 dias foi em média 0,93 kgf menos força de cisalhamento comparada a maturação de 7 dias (4,3 vs. 3,4 kgf; P<0,0001). O valor de L* foi maior no grupo creep feeding devido a maior presença de gordura (37,8 vs. 36,5; P<0,0036). Enzimas importantes relacionadas a maciez, como actina alfa 1, músculo esquelético (ACTA1), Miosina de cadeia leve 1 (MYL1), Beta enolase (ENO3) e Creatina kinase tipo M (CKM) diferencialmente expressas em ambos os grupos. Algumas outras foram diferencialmente abundantes no grupo creep feeding Alfa enolase (ENO1), Troponina T rápida do músculo esquelético (TNNT3), Fosfoglicomutase 1 (PGM1) ou no creep feeding Malato desidrogenase 1 (MDH1), Miosina de cadeia leve 3 (MYL3), Troponina T lenta do músculo esquelético (TNNT1). A utilização do sistema de creep feeding aumenta o peso a desmama e não afeta o ganho médio diário na terminação, no entanto reduz o ganho de carcaça e a eficiência após 200 dias de confinamento. O creep feeding aumenta a gordura subcutânea e intramuscular, afeta a abundância de proteínas musculares e glicolíticas, mas essas alterações não são suficientes para impactar a maciez da carne.

Palavras-chave: creep feeding, gordura intramuscular, proteômica, qualidade de carne, *Longissimus thoracis*

PERFORMANCE, CARCASS CHARACTERISTICS, MEAT QUALITY AND MUSCLE PROTEOMICS IN F1 ANGUS-NELORE BOVINE SUPPLEMENTED IN CREEP FEEDING AND FEEDLOT FINISHED AFTER WEANNING

ABSTRACT – Our objective was to investigate the effect of creep feeding supplementation on performance, carcass characteristics, meat quality and proteomic profile of the Longissimus thoracis muscle of F1 Angus-Nelore steers in feedlot finished after weaning. Forty-five F1 Angus-Nelore calves, half siblings, were supplemented or not in creep feeding for 172 days, weaned and confined on the same diet for 200 days. Differences were considered significant if P<0.05. Creep feeding supplementation increased average daily gain (0.97 vs. 1.05 kg; P<0.0001) and body weight at weaning (227 vs. 243 kg; P<0.0002) compared to animals not supplemented. Animals from creep feeding gained more weight during acclimatization (1.4 vs. 9.9 kg; P<0.0003). Dry matter intake and average daily gain did not differ, but the final body weight of creep feeding animals was higher (484 vs. 499 kg; P<0.0339). The feed and biological efficiencies of the control group were better and the animals in the creep feeding group needed to ingest 15.33 kg of additional dry matter to produce 15 kg of carcass. This difference in confinement was R$73.51 and is equivalent to a 3% increase in finishing costs. Subcutaneous fat thickness (10.6 vs. 12.5 mm; P<0.0076) and intramuscular fat content (4.9% vs. 5.8%; P<0.0087) in the Longissimus thoracis muscle were higher in creep feeding animals compared to those not supplemented. Steers from the creep feeding group had higher levels of saturated, unsaturated and monounsaturated fatty acids. The shear force, pH, color variables a*, b*, C* and h* did not differ between the experimental groups. Meat aged at 14 days had an average of 0.93 kgf less shear force compared to that aged for 7 days (4.3 vs. 3.4 kgf; P<0.0001). The L* value was higher in the creep feeding group due to the greater presence of fat (37.8 vs. 36.5; P<0.0036). Important enzymes related to softness, such as actin alpha 1, skeletal muscle (ACTA1), Myosin light chain 1 (MYL1), Beta enolase (ENO3) and Creatine kinase type M (CKM) differentially expressed in both groups. Some others were differentially abundant in the creep feeding group Alpha enolase (ENO1), Fast skeletal muscle Troponin T (TNNT3), Phosphoglycomutase 1 (PGM1) or in the creep feeding Malate dehydrogenase 1 (MDH1), Myosin light chain 3 (MYL3), Skeletal muscle slow troponin T (TNNT1). The use of the creep feeding system increases weaning weight and does not affect the average daily gain at finishing, however it reduces carcass gain and efficiency after 200 days of confinement. Creep feeding increases subcutaneous and intramuscular fat, affects the abundance of muscle and glycolytic proteins, but these changes are not enough to impact the tenderness of the meat.

Key words: creep feeding, intramuscular fat, proteomics, meat quality, *Longissimus thoracis*

1.1 CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

2.1 Introdução

A qualidade da carne é afetada pelos mecanismos bioquímicos e metabólicos que ocorrem durante a transformação do músculo em carne. Esses incluem principalmente redução do pH, degradação de proteínas miofibrilares, oxidação e modificação pós-tradução de proteínas (Huang et al., 2020). A gordura intramuscular é uma característica importante pois influencia os atributos de qualidade e palatabilidade da carne bovina (Park et al., 2018). Contudo, apenas uma pequena parcela das carcaças bovinas exibe um grau de gordura intramuscular elevado (Moore et al., 2012).

O custo de deposição elevado e o baixo valor comercial especialmente da gordura visceral estimulou a seleção de animais com maior desenvolvimento de massa muscular (Wang et al., 2016), e uma alta relação entre tecido magro/gorduroso implica na redução da deposição da gordura intramuscular (Du et al., 2013). Embora o aumento do marmoreio seja desejável na carne, o acúmulo de gordura visceral é um desperdício. No entanto, os métodos utilizados atualmente para aumentar a gordura intramuscular são limitados ao aumento geral da gordura corporal (Wang et al., 2016; Park et al., 2018). Portanto, estratégias que aumentem a produção de carne marmorizada, sem aumentar ou mesmo que reduzam a deposição de gordura não comestível são necessárias.

A gordura de marmoreio pode ser incrementada tanto pela hiperplasia quanto pela hipertrofia dos adipócitos, das quais a hiperplasia é especialmente importante porque esses adipócitos fornecerão locais para posterior deposição lipídica (Harris et al., 2018; Li et al., 2020). A formação dos adipócitos começa próximo ao meio da gestação em bovinos de corte (Bonnet et al., 2010), primeiro com adipócitos da gordura visceral seguido por depósitos de gordura intermuscular, subcutânea e finalmente intramuscular (Du et al., 2013). A hiperplasia nos adipócitos intramusculares ocorre até cerca de 250 dias de idade (Du et al., 2013).

Nesse sentido, o creep feeding é uma estratégia nutricional que pode ser utilizada como oportunidade para manipular a adipogênese e aumentar especialmente a deposição intramuscular em relação aos demais depósitos de gordura. Além disso, o ganho de peso contínuo desde o período de aleitamento até

o abate é uma característica primordial para o sucesso da produção de gado de corte (Lopes et al., 2016) e estudos mostram claramente o efeito positivo do creep feeding no peso corporal ao desmame (Lopes et al., 2014; Barros et al., 2015; Carvalho et al., 2019). Além disso, animais com cruzamento com raças taurinas (Bos taurus taurus), e que sejam castrados, são predisponentes a maior deposição de gordura intramuscular e maciez na carne. Portanto, a utilização de animais cruzados e castrados é uma opção interessante para melhorar as características de qualidade da carne e modelo experimental.

A abordagem proteômica tem sido amplamente utilizada para caracterizar e identificar proteínas relacionadas às características de qualidade de carne, uma vez que as proteínas são principais constituintes do tecido muscular e que regulam processos metabólicos (D'Alessandro et al., 2011; Lana and Zolla, 2016). Estudos recentes de proteômica e a qualidade da carne avaliaram diferentes características como maciez, marmoreio e capacidade de retenção de água (Baldassini et al., 2015; Poleti et al., 2018; Silva et al., 2019; Gagaoua et al., 2019). No entanto, não existe estudo publicado sobre qualidade da carne de novilhos submetidos a suplementação em creep feeding e terminados em confinamento em sistema de produção superprecoce com a abordagem proteômica.

Nossa hipótese é que a suplementação por meio do creep feeding pode melhorar o desempenho, características de carcaça, maciez da carne, teor de gordura e perfil de ácidos graxos intramuscular da carne de novilhos terminados em confinamento após o desmame. Diante disso, objetivou-se investigar o efeito da suplementação em creep feeding sob o desempenho, características de carcaça, características físicas e químicas da carne e perfil de ácidos graxos intramuscular, e explorar por meio da proteômica os processos moleculares que regulam a maciez e marmoreio da carne de novilhos F1 Angus-Nelore terminados em confinamento após o desmame.

Creep feeding

O sucesso dos sistemas de produção de bovinos de corte está diretamente relacionado a intensificação e melhora do desempenho produtivo das diferentes

fases da operação pecuária. A cria compreende o período entre a estação reprodutiva e a desmama, que pode ocorrer no período de seis a oito meses, e é responsável por fornecer animais para as demais fases da cadeia da carne. Essa fase desperta o interesse de produtores e pesquisadores pois é uma oportunidade de inserir estratégias nutricionais e obter um maior peso ao desmame (Lopes et al., 2017; Moriel et al., 2017). Além disso, desmamar bezerros com maior peso corporal (PC) pode reduzir o tempo de recria e possibilita abater ou acasalar animais mais jovens (Paulino et. al. 2012).

Uma das estratégias utilizadas para aumentar o peso ao desmame é fornecer nutrientes exclusivamente aos bezerros sem a necessidade de separá-los de suas mães, através de uma técnica tradicionalmente conhecida como creep feeding (Bray, 1934; Moriel et al., 2017). O leite é uma fonte alimentar importante, no entanto, após o terceiro mês de idade a exigência nutricional aumenta enquanto a produção de leite reduz e se torna incapaz de sustentar o crescimento pleno dos bezerros (Tarr et al., 1994; Fonseca et al., 2012; Costa e Silva et al., 2015). Além disso, a variação da produção e qualidade da forragem durante o ano é uma característica das pastagens tropicais e impede a máxima desempenho e aproveitamento do potencial genético (Lardy and Maddock, 2007; Detmann et al., 2014). Nesse sentido, a utilização de creep feeding é uma alternativa para suprir o déficit de nutrientes dos bezerros durante a fase de aleitamento.

O creep-feeding não reduz o consumo de leite (Valente et al., 2012; Carvalho et al., 2019) e também não interfere no desempenho das vacas (Aguiar et al., 2015; Carvalho et al., 2019). O aumento dos níveis de suplementação diminui o consumo de forragem (Almeida et al., 2018) e o tempo de pastejo (Lopes et al., 2017; Martins et al., 2017) enquanto o consumo total da matéria seca (MS) aumenta (Lardy and Maddock, 2007). Efeitos negativos na digestão da fibra de forragens tropicais podem ocorrer quando bezerros ingerem grandes quantidades de concentrado ou consomem suplementos com baixo teor de proteína ou alto teor de carboidratos (Lopes et al., 2017; Valente et al., 2014). No entanto, há acréscimo na digestibilidade da MS e, portanto, na ingestão total de nutrientes digestíveis com subsequente melhora no desempenho dos bezerros (Carvalho et al., 2019).

Através de metanálise, (Carvalho et al., 2019) descobriram que na raça nelore a resposta ao creep feeding é influenciada pelo sexo do bezerro. Eles

também estimaram que a maximização do ganho de peso suplementar ocorre quando os machos são alimentados na quantidade de 7,6g/kg PC contendo 225g PB/kg MS (0.2kg/dia), e fêmeas na quantidade de 5,5g/kg PC contendo 224g PB /kg MS (0.1kg/dia) (Carvalho et al., 2019). Se essas respostas máximas fossem obtidas durante 150 dias de suplementação, o ganho de peso adicional ao desmame poderia ser de 30 kg para machos e 15 kg para fêmeas em comparação a animais não suplementados.

Alguns benefícios adicionais do creep feeding são o aumento da imunidade e menor estresse ao desmame (Souza et al., 2007; Lynch et al., 2012; Moriel and Arthington, 2013; Campistol et al., 2016). O desmame é um período delicado e é um grande desafio para o bezerro, marcado pela privação da mãe (Pérez et al., 2017), mudanças na alimentação e no ambiente, além de maior contato com humanos e maior frequência de manejo (Lynch et al., 2019). Dessa forma, a suplementação em creep feeding pode auxiliar na redução da dependência social da mãe e produzir uma experiencia alimentar prévia que favoreça a aclimatação ao confinamento (Lardy and Maddock, 2007) em comparação a bezerros não suplementados.

Efeitos da alimentação na fase de cria

Fenômenos biológicos que ocorrem no início da vida em resposta a experiências nutricionais podem causar efeitos permanentes no indivíduo (Waterland and Garza, 1999). Portanto, é possível associar estratégias nutricionais que aumentem o desempenho no início da vida dos animais a uma melhora de parâmetros produtivos na fase adulta. Identificar e adotar essas estratégias pode otimizar os recursos nutricionais e aumentar a lucratividade dos produtores.

Em fêmeas, o fornecimento precoce de concentrado na dieta acelera a maturação do eixo reprodutivo (Kelly et al., 2020). Estudos com desmama precoce mostraram que é possível reduzir a idade a puberdade de novilhas ao fornecer dietas ricas em concentrado em comparação com animais mantidos com dietas a base de forragem (Cardoso et al., 2014; Moriel et al., 2014b). No entanto, o fornecimento de suplemento via creep feeding não afetou a idade a puberdade de novilhas apesar de induzir alterações em variáveis fisiológicas e bioquímicas (Reis et al., 2015).

Para animais de corte, no estudo de Shike et al. (2007) tanto o desmame precoce quanto o creep feeding resultaram em maior ganho de peso, maior peso de carcaça quente, e melhor retorno econômico com as carcaças do que o desmame convencional. Entretanto, Lancaster et al. (2007) observaram em dois anos de avaliação, que bezerros suplementados em creep feeding tiveram maior espessura de gordura subcutânea, peso e rendimento de carcaça e em comparação com bezerros não suplementados no primeiro ano, mas não no segundo.

O fornecimento de uma dieta com alto nível de amido para novilhos de corte entre 100 e 205 dias de idade aumentou o peso da carcaça e o escore de marmoreio em comparação com novilhos alimentados com forragem desmamados aos 205 dias de idade (Scheffler et al., 2014). A suplementação com fontes lipídicas em animais desmamados precocemente aumentou o teor de marmoreio independentemente do efeito no diâmetro dos adipócitos (Mangrum et al., 2016; Tipton et al., 2020). No entanto, apesar de regular positivamente a expressão de mRNA de genes adipogênicos, fornecer esse tipo de suplemento via creep-feeding não foi capaz de alterar as características de carne e de carcaça (Schubach et al., 2019).

A exposição precoce a dietas com alto teor de energia induz a diferenciação de adipócitos através da expressão elevada do receptor ativado por proliferador de peroxissoma γ (PPAR-γ) (Graugnard et al., 2010; Moriel et al., 2014a; Schubach et al., 2019). PPAR-γ desempenha um papel fundamental na adipogênese do tecido adiposo intramuscular pois é necessário para a ativação de muitos genes do metabolismo lipídico (Lim et al., 2011; Ladeira et al., 2016; Nguyen et al., 2021).

Em bovinos, os adipócitos intramusculares sofrem hiperplasia desde o final da gestação até cerca de 250 dias de idade para passar pela hipertrofia na fase de terminação (Figura 1). Este estágio de proliferação ativa de adipócitos intramusculares é considerado uma importante oportunidade de aumentar o marmoreio da carne (Du et al., 2010, 2017). A variação cronológica na adipogênese cria uma oportunidade de incrementar a gordura intramuscular sem que haja aumento no acúmulo geral de gordura, o que é chamado de “janela de marmoreio” (Du et al., 2013).

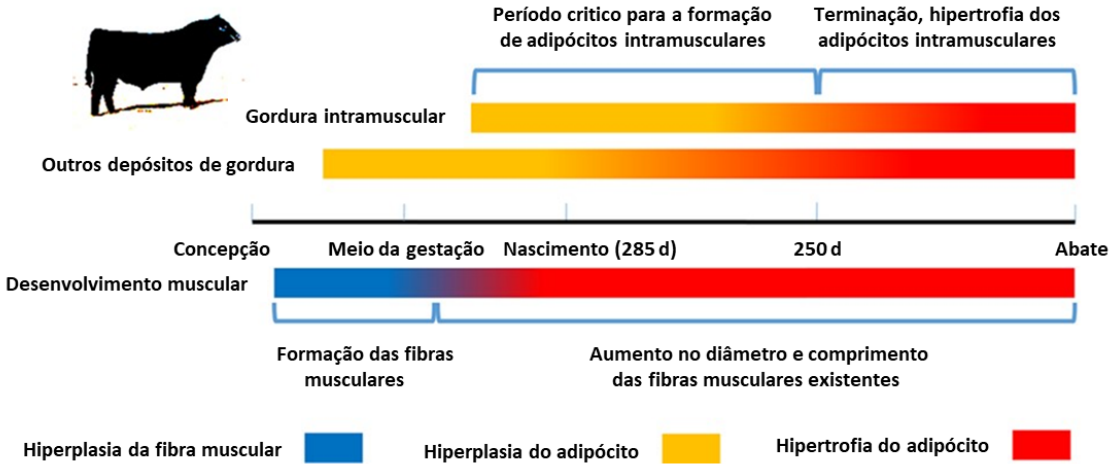

Figura 1: Linhas do tempo para o desenvolvimento do músculo esquelético e tecido adiposo em bovinos de corte. Os tempos de hiperplasia e hipertrofia das fibras musculares e hiperplasia e hipertrofia dos adipócitos são aproximados. Fonte: Du et al (2017).

O sucesso da estratégia e, consequentemente, os efeitos no desenvolvimento pós-desmame são dependentes da duração e da intensidade do período de manipulação (Reis et al., 2015). A inconsistência nas respostas observadas ao longo da vida, principalmente sob a qualidade da carcaça, atribuídas ao fornecimento de creep feeding podem estar associadas à grande variabilidade no manejo pós-desmame, composição dos suplementos e consumo de nutrientes entre os experimentos (Harvey et al., 2021).

Outro fator importante é que há uma redução na plasticidade à medida que os animais envelhecem, portanto, a ingestão de nutrientes no início da vida é essencial (Lucas, 1998). Além disso, a intensidade das respostas ao estresse do desmame é maior em bezerros mais jovens (Teixeira et al., 2021) e práticas como a desmama precoce podem futuramente causar um efeito negativo na percepção da sociedade em relação a atividade pecuária. Portanto, o creep feeding pode ser uma ferramenta interessante para melhorar o desempenho e aumentar o marmoreio da carne em bovinos de corte.

Características de carcaça e qualidade de carne

A qualidade da carne envolve um conjunto de atributos identificados pelo consumidor durante a compra e o consumo, que determina o grau de satisfação com o produto (Matarneh et al., 2021). Sistema de alimentação, dieta, grupo

genético, classe sexual, idade do animal, além do próprio musculo são alguns dos fatores que interferem nas características de qualidade da carne e da carcaça (Miguel et al., 2014; Canto et al., 2016; Salim et al., 2022; Santiago et al., 2023b).

Os consumidores associam a coloração da carne in natura ao frescor, salubridade e qualidade alimentar, e por esse motivo a cor é o atributo que mais influencia as decisões de compra da carne (Hughes et al., 2020; Matarneh et al., 2021; Suman et al., 2014). Estima-se que aproximadamente 2.55% da carne bovina é descartada devido a problemas com a cor, e que apenas a indústria de carne bovina dos Estados Unidos perde cerca de US$ 3,73 bilhões anualmente (Ramanathan et al., 2022). A cor da carne é determinada pelas contribuições cromáticas (derivadas do pigmento), e acromáticas (relacionadas a estrutura do músculo). Concentração e oxidação da mioglobina são centrais para as contribuições cromáticas, enquanto que as estruturas miofibrilares determinam as propriedades acromáticas (Hughes et al., 2019; Jacob, 2020).

A coloração da carne é mais afetada pelo sistema de terminação do que por estratégias anteriores a esse período (Silva et al., 2017; Torrecilhas et al., 2021). Em geral, bovinos terminados em sistemas de confinamento produzem carne com coloração vermelha mais viva do que os animais terminados em sistemas baseados em forragem independentemente da estratégia nutricional anterior (Wicks et al., 2019; Apaoblaza et al., 2020).

Através de um estudo utilizando regressão multivariada Gagaoua et al., (2018) identificaram que idade, peso ao abate, pH 24h após o abate, grau de conformação e de gordura afetam as características de cor da carne bovina. Com o aumento da idade e do peso ao abate a luminosidade (L*) reduz enquanto a vermelhidão (a*), amarelidão (b*) e croma (C*) aumentam. Em oposição, um aumento na conformação muscular está associado a uma diminuição em a*, b* e C* e acréscimo em L*.

O aumento no escore de gordura está associado a um forte aumento de a*, b*, C* e L*. À medida que o pH24h aumenta, a* e C* diminuem enquanto nenhum impacto ocorre em L* e b*. A matiz (h*) diminui em animais mais velhos e aumenta com pH24h mais elevados, mas não sofre influência das demais variáveis. De forma geral, animais com alto grau de musculosidade apresentam carne mais clara, enquanto maior peso de abate resulta em carne mais escura.

A maciez da carne é uma característica importante de qualidade que está diretamente associado a satisfação, repetição da compra e a disposição a pagar preços mais elevados (Warner et al., 2021, 2022). Tecido conjuntivo, integridade miofibrilar, comprimento do sarcômero, gordura intramuscular e desnaturação de proteínas durante o cozimento são os principais componentes que determinam a maior parte das variações na maciez da carne (Warner et al., 2021, 2022). O amaciamento da carne está fortemente relacionado à ruptura das estruturas musculares pela quebra de proteínas miofibrilares (Lomiwes et al., 2014; Gagaoua et al., 2019).

A raça e o genótipo determinam o potencial de um animal produzir carne macia (Whipple et al., 1990; Wright et al., 2018), e a interação da genética com o ambiente e manejo ante e post mortem determinará a maciez final (Mueller et al., 2019; Baldassini et al., 2023; Santiago et al., 2023b). Embora vários fatores influenciem a maciez da carne, um determinante primário é o sistema calpaína. Resumidamente, as calpaínas são as proteases que iniciam a proteólise, enquanto a calpastatina é o inibidor endógeno específico da calpaína e pode inibir a atividade proteolítica (Bhat et al., 2018).

Animais Bos taurus indicus têm maior atividade da calpastatina quando comparados a Bos taurus taurus e, essa atividade aumentada em zebuínos diminui a proteólise post-mortem, o que afeta negativamente a maciez (Whipple et al., 1990; Wright et al., 2018). Uma alternativa para minimizar esse efeito e tornar a carne mais macia é utilizar o cruzamento entre animais de raças zebuínas e taurinas (Barcellos et al., 2017; Ferrinho et al., 2021).

A dieta pode influenciar a maciez da carne, porém frequentemente fatores importantes como idade, taxa de crescimento, peso da carcaça e cobertura de gordura produzem um efeito de confundimento (Wicks et al., 2019). A dieta e o sistema de produção são importantes porque estão relacionados ao glicogênio muscular que será o substrato para a queda de pH. A taxa de crescimento afeta a renovação do colágeno intramuscular e a hipertrofia das células musculares, assim, o crescimento mais rápido pode aumentar a porcentagem de colágeno solúvel com calor e consequentemente, melhorar a maciez da carne (Purslow et al., 2012). Além disso, à medida que os animais amadurecem, as ligações cruzadas intermoleculares estabilizam a matriz do tecido conjuntivo do músculo e o aumento

da estabilidade do colágeno está associado ao aumento da resistência (Purslow, 2018).

O peso da carcaça e a gordura de cobertura são importantes porque interferem na velocidade de resfriamento da carcaça. Quando as carcaças são resfriadas rapidamente, elas podem ser afetadas pelo encurtamento e/ou endurecimento induzido pelo frio (Savell et al., 2005). Carcaças menores resfriam mais rapidamente devido a maior área superficial especifica. Além disso, a gordura de cobertura fornece uma camada de proteção e diminui a velocidade em que a temperatura reduz (Chardulo et al., 2013).

O teor de gordura intramuscular e o perfil de ácidos graxos influenciam os atributos sensoriais da carne bovina (Stewart et al., 2021; Nguyen et al., 2021). Genética, classe sexual, nutrição e manejo são os principais fatores que influenciam os níveis de marmoreio em bovinos de corte (Nguyen et al., 2021). A adipogênese é um processo complexo que inclui duas etapas distintas: o comprometimento das células-tronco mesenquimais em pré-adipócitos e a proliferação e diferenciação adipogênica (Du et al., 2015).

A lipogênese é o processo fisiológico de síntese de ácidos graxos endógenos (Ladeira et al 2016). Para que ocorra a síntese de gordura no tecido adiposo os ácidos graxos da dieta ou oriundos da síntese de novo devem ser incorporados ao tecido adiposo animal. Um importante doador de carbono para a síntese de gordura intramuscular é a glicose (Smith, 1984). Portanto, é necessário que o consumo de energia liquida seja elevada e a dieta tenha um perfil propiônico e forneça elevadas quantidades de glicose via gliconeogênese hepática. Ao contrário, existe uma relação negativa entre a altas proporções de forragem e o conteúdo de gordura intramuscular (Hwang and Joo, 2017).

A classe sexual é outro fator importante porque interfere na lipogênese e na lipólise (Bong et al., 2012). A castração geralmente melhora os níveis de marmoreio (Moran et al., 2017; Santiago et al., 2023a). Outro importante fator que interfere no acúmulo de gordura intramuscular é o genético. Assim como a maciez, animais zebuínos tem uma capacidade de deposição menor e mais tardia comparada a taurinos e, principalmente, Wagyu (Shahrai et al., 2021). Além disso, o tamanho corporal define o peso a maturidade e, portanto o momento em que a deposição de gordura se acentua (Owens et al., 1993).

Proteômica aplicada à qualidade de carne

As características de qualidade de carne como maciez, cor, capacidade de retenção de água e pH da carne são determinados através de métodos convencionais. Porém, os resultados determinam apenas as características no momento da análise e tampouco ajudam a elucidar os mecanismos que influenciam a qualidade de carne. Nesse sentido, estudos que identificam os biomarcadores que são componentes celulares de processos biológicos podem fornecer suporte científico no entendimento da expressão diferencial associada ao fenótipo de uma característica específica (Ouali et al., 2013; Picard et al., 2019).

A proteômica é o estudo realizado para caracterizar o perfil proteico de uma determinada amostra de forma simultânea, que revela os produtos do material genético que foi expresso e, posteriormente, traduzido em proteínas (Petracci and Cavani, 2012). As técnicas adotadas na proteômica utilizam princípios como a eletroforese em gel unidimensional e bidimensional, fundamentada na separação das proteínas pelo seu ponto isoelétrico e peso molecular ou com a utilização de cromatografia. Ambos os métodos precisam da espectrometria de massas para a identificação do perfil proteico (Hollung et al., 2007; Lippolis and Reinhardt, 2008). Só que quando combinada à eletroforese bidimensional, análises computacionais de imagens e base de dados, tornam-se poderosas ferramentas para identificação e caracterização de proteínas em estudos proteômicos (Baldassini et al., 2015).

A análise das sequências de nucleotídeos nem sempre está diretamente relacionada aos níveis de proteínas expressas e de sua função biológica, devido as mudanças durante a pós-tradução do RNA como a glicosilação, fosforilação, acilação, ubiquitilação, hidroxilação e carboxilação. Pelos motivos expostos, a utilização de estudos proteômicos, como ferramenta para avaliação das interações entre as proteínas e sua influência na composição final da carne, tornam-se relevantes contribuições para a busca de biomarcadores das características de interesse econômico na carne (Picard et al., 2015; Huang et al., 2020).

Gagaoua et al. (2019) avaliando bovinos das raças Aberdeen Angus, Limousin e Blond d'Aquitain, identificaram biomarcadores associados a característica de maciez da carne. As proteínas identificadas foram as cadeias pesadas de miosina (*MyHC-I, MyHC-IIa e MyHC-IIx*), proteína da doença de Parkinson ((*DJ-1*) (*PARK-7*)), peroxiredoxina 6 (*PRDX6*) e μ-calpaína (*CAPN1*) (Carvalho et al., 2014). No entanto, os autores destacam que a relação entre os

biomarcadores e a maciez da carne depende da temperatura final do cozimento da carne.

Picard et al. (2019) avaliaram a abundancia relativa de 20 proteínas consideradas biomarcadores para as características de maciez e gordura intramuscular em cinco diferentes músculos de vacas e novilhos da raça Maine-Anjou. Os autores observaram que as vacas comparadas aos novilhos expressaram maior abundancia de frutose-bi-fosfato aldolase (*ALDOA*), miosina de cadeia pesada (*MyHC-IIx*), malato desidrogenase (*MDH1*) e heat-shock proteins 20 (*HSP20*), e menor abundancia da fosfoglicerato quinase-1 (*PGK1*), peroxiredoxina (*PRDX6*), triosefosfato isomerase (*TPI1*) e troponita T (*TNNT1*), em todos os músculos.

Severino et al. (2022) observaram a expressão das proteínas de transporte (*ALVA e GLNG*), metabolismo de carboidratos (*ALDOA, GAPDH, PKM, CA3*), defesa celular (*HSPA8*) e glicogenólise (*PYGM e PGM1*), que estão relacionados com a melhor resposta ao estresse e eficiência energética. Neste estudo, a alteração na abundância dessas proteínas e vias metabólicas ajudaram a explicar o maior teor de gordura intramuscular encontrado na carne das novilhas.

Estudos de proteômica combinados com a ciência da carne tem avançado nos últimos vinte anos, e sua contribuição para o entendimento dos mecanismos para a característica de maciez tem sido mais abordados. No entanto, poucos estudos foram publicados com o objetivo de compreender a deposição de gordura intramuscular em bovinos. Além disso, não há estudos com abordagem proteômica que investigaram os mecanismos moleculares que regulam a maciez da carne e deposição de tecido adiposo intramuscular em bovinos F1 Angus-Nelore submetidos em sistemas de creep feeding.

3.1 Referências

Aguiar, A. D., Vendramini, J. M. B., Arthington, J. D., Sollenberger, L. E., Caputti, G., Sanchez, J. M. D., Cunha, O. F. R., & da Silva, W. L. (2015). Limited creep-feeding supplementation effects on performance of beef cows and calves grazing limpograss pastures. **Livestock Science**, 180, 129–133. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.08.008

Almeida, D. M., Marcondes, M. I., Rennó, L. N., Martins, L. S., Marquez, D. E. C., Villadiego, F. C., Saldarriaga, F. V., Ortega, R. M., Moreno, D. P. S., Lopes, S. A.,

Cardozo, M. A., & Paulino, M. F. (2018). Supplementation strategies for Nellore female calves in creep feeding to improve the performance: nutritional and metabolic responses. **Tropical Animal Health and Production**, 50(8), 1779–1785. https://doi.org/10.1007/s11250-018-1619-2

Apaoblaza, A., Gerrard, S. D., Matarneh, S. K., Wicks, J. C., Kirkpatrick, L., England, E. M., Scheffler, T. L., Duckett, S. K., Shi, H., Silva, S. L., Grant, A. L., & Gerrard, D. E. (2020). Muscle from grass- and grain-fed cattle differs energetically. **Meat Science**, 161. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107996

Baldassini, W. A., Braga, C. P., Chardulo, L. A. L., Silva, J. A. I. V., Malheiros, J. M., De Albuquerque, L. G., Fernandes, T. T., & Padilha, P. D. M. (2015). Bioanalytical methods for the metalloproteomics study of bovine longissimus thoracis muscle tissue with different grades of meat tenderness in the Nellore breed (Bos indicus). **Food Chemistry**, 169, 65–72. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.131

Baldassini, W., Coutinho, M., Rovadoscki, G., Menezes, B., Tagiariolli, M., Torrecilhas, J., Leonel, J., Pereira, G., Curi, R., Machado Neto, O., & Chardulo, L. A. (2023). Bos indicus Carcasses Suspended by the Pelvic Bone Require a Shorter Aging Time to Meet Consumer Expectations Regarding Meat Quality. **Foods,** 12(5). https://doi.org/10.3390/foods12050930

Barcellos, V. C., Mottin, C., Passetti, R. A. C., Guerrero, A., Eiras, C. E., Prohman, P. E., Vital, A. C. P., & Do Prado, I. N. (2017). Carcass characteristics and sensorial evaluation of meat from Nellore steers and crossbred Angus vs. Nellore bulls. **Acta Scientiarum**. Animal Sciences, 39(4), 437–448. https://doi.org/10.4025/ACTASCIANIMSCI.V39I4.36692

Bhat, Z. F., Morton, J. D., Mason, S. L., & Bekhit, A. E. D. A. (2018). Role of calpain system in meat tenderness: A review. **Food Science and Human Wellness**, 7(3), 196–204. https://doi.org/10.1016/J.FSHW.2018.08.002

Bong, J. J., Jeong, J. Y., Rajasekar, P., Cho, Y. M., Kwon, E. G., Kim, H. C., Paek, B. H., & Baik, M. (2012). Differential expression of genes associated with lipid metabolism in longissimus dorsi of Korean bulls and steers. **Meat Science,** 91(3), 284–293. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.02.004

Bray, Chas. I. (1934). Creep Feeding Beef Calves. **Journal of Animal Science**, 1934(1), 96–98. https://doi.org/10.2527/JAS1934.1934196X

Campistol, C., Kattesh, H. G., Waller, J. C., Rawls, E. L., Arthington, J. D., Carroll, J. A., Pighetti, G. M., & Saxton, A. M. (2016). Effects of pre-weaning feed supplementation and total versus fenceline weaning on the physiology and performance of beef steers. **International Journal of Livestock Production**, 7(8), 48–54. https://doi.org/10.5897/ijlp2016.0291

Canto, A. C. V. C. S., Costa-Lima, B. R. C., Suman, S. P., Monteiro, M. L. G., Viana, F. M., Salim, A. P. A. A., Nair, M. N., Silva, T. J. P., & Conte-Junior, C. A. (2016). Color attributes and oxidative stability of longissimus lumborum and psoas major muscles from Nellore bulls. **Meat Science**, 121, 19–26. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2016.05.015

Cardoso, R. C., Alves, B. R. C., Prezotto, L. D., Thorson, J. F., Tedeschi, L. O., Keisler, D. H., Park, C. S., Amstalden, M., & Williams, G. L. (2014). Use of a stair-step compensatory gain nutritional regimen to program the onset of puberty in beef heifers. **Journal of Animal Science**, 92(7), 2942–2949. https://doi.org/10.2527/JAS.2014-7713

Carvalho, M. E., Gasparin, G., Poleti, M. D., Rosa, A. F., Balieiro, J. C. C., Labate, C. A., Nassu, R. T., Tullio, R. R., Regitano, L. C. de A., Mourão, G. B., & Coutinho, L. L. (2014). Heat shock and structural proteins associated with meat tenderness in Nellore beef cattle, a Bos indicus breed**. Meat Science**, 96(3), 1318–1324. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.11.014

Carvalho, V. V., Paulino, M. F., Detmann, E., Filho, S. C. V., Lopes, S. A., Rennó, L. N., Sampaio, C. B., & Silva, A. G. (2019). A meta-analysis of the effects of creep-feeding supplementation on performance and nutritional characteristics by beef calves grazing on tropical pastures. **Livestock Science**, 227, 175–182. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.07.009

Chardulo, L. A. L., Silveira, A. C., & Vianello, F. (2013). Analytical Aspects for Tropical Meat Quality Assessment. In Food Quality, Safety and Technology (pp. 53–62). **Springer Vienna**. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1640-1_4

Costa e Silva, L. F., Engle, T. E., de Valadares Filho, S., Rotta, P. P., Villadiego, F. A. C., Silva, F. A. S., Martins, E. C., Silva, L. H. R., & Paulino, M. F. (2015). Nellore cows and their calves during the lactation period: performance, intake, milk composition, and total apparent digestibility. **Tropical Animal Health and Production**, 47(4), 735–741. https://doi.org/10.1007/S11250-015-0787-6/FIGURES/3

Detmann, E., Valente, É. E. L., Batista, E. D., & Huhtanen, P. (2014). An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livestock Science**, 162(1), 141–153. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.01.029

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). 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. (2010). Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals. In **Journal of animal science** (Vol. 88, Issue 13 Suppl). 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. In **Meat Science** (Vol. 109, pp. 40–47). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.04.010

Ferrinho, A. M., de Moura, G. V., Martins, T. da S., Muñoz, J., Mueller, L. F., Garbossa, P. L. M., de Amorim, T. R., Gemelli, J. L., Fuzikawa, I. H. de S., Prado, C., da Silveira, J. C., Poleti, M. D., Baldi, F., & Pereira, A. S. C. (2021). Rubia Gallega x Nelore crossbred cattle improve beef tenderness through changes in protein abundance and gene expression. **Livestock Science**, 251, 104634. https://doi.org/10.1016/J.LIVSCI.2021.104634

Fonseca, M. A., Valadares Filho, S. de C., Henriques, L. T., Paulino, P. V. R., Detmann, E., Fonseca, E. A., Benedeti, P. D. B., & da Silva, L. D. (2012). Nutritional requirements of nursing Nellore calves. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 41(5), 1212–1221. https://doi.org/10.1590/S1516-35982012000500019

Gagaoua, M., Picard, B., & Monteils, V. (2018). Associations among animal, carcass, muscle characteristics, and fresh meat color traits in Charolais cattle. **Meat Science**, 140, 145–156. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2018.03.004

Gagaoua, M., Terlouw, C., Richardson, I., Hocquette, J.-F., & Picard, B. (2019). The associations between proteomic biomarkers and beef tenderness depend on the end-point cooking temperature, the country origin of the panelists and breed. **Meat Science**, 157, 107871. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.06.007

Graugnard, D. E., Berger, L. L., Faulkner, D. B., & Loor, J. J. (2010). High-starch diets induce precocious adipogenic gene network up-regulation in longissimus lumborum of early-weaned Angus cattle. **British Journal of Nutrition**, 103(7), 953–963. https://doi.org/10.1017/S0007114509992789

Harvey, K. M., Cooke, R. F., & Moriel, P. (2021). Impacts of Nutritional Management During Early Postnatal Life on Long-Term Physiological and Productive Responses of Beef Cattle. **Frontiers in Animal Science**, 2, 44. https://doi.org/10.3389/FANIM.2021.730356

Hollung, K., Veiseth, E., Jia, X., Færgestad, E. M., & Hildrum, K. I. (2007). Application of proteomics to understand the molecular mechanisms behind meat

quality. **Meat Science,** 77(1 SPEC. ISS.), 97–104. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.018

Huang, C., Hou, C., Ijaz, M., Yan, T., Li, X., Li, Y., & Zhang, D. (2020). Proteomics discovery of protein biomarkers linked to meat quality traits in post-mortem muscles: Current trends and future prospects: A review. **In Trends in Food Science and Technology** (Vol. 105, pp. 416–432). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.030

Hughes, J., Clarke, F., Li, Y., Purslow, P., & Warner, R. (2019). Differences in light scattering between pale and dark beef longissimus thoracis muscles are primarily caused by differences in the myofilament lattice, myofibril and muscle fibre transverse spacings. **Meat Science**, 149, 96–106. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2018.11.006

Hughes, J. M., Clarke, F. M., Purslow, P. P., & Warner, R. D. (2020). Meat color is determined not only by chromatic heme pigments but also by the physical structure and achromatic light scattering properties of the muscle. Comprehensive Reviews in **Food Science and Food Safety**, 19(1), 44–63. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12509

Hwang, Y. H., & Joo, S. T. (2017). Fatty Acid Profiles, Meat Quality, and Sensory Palatability of Grain-fed and Grass-fed Beef from Hanwoo, American, and Australian Crossbred Cattle. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, 37(2), 153. https://doi.org/10.5851/KOSFA.2017.37.2.153

Jacob, R. (2020). Implications of the variation in bloom properties of red meat: A review. **Meat Science,** 162, 108040. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2019.108040

Kelly, A. K., Byrne, C., McGee, M., Perry, G. A., Crowe, M. A., Sauerwein, H., & Kenny, D. A. (2020). Effect of calfhood nutrition on metabolic hormones, gonadotropins, and estradiol concentrations and on reproductive organ development in beef heifer calves. **Journal of Animal Science**, 98(10). https://doi.org/10.1093/JAS/SKAA310

Ladeira, M. M., Schoonmaker, J. P., Gionbelli, M. P., Dias, J. C. O., Gionbelli, T. R. S., Carvalho, J. R. R., & Teixeira, P. D. (2016). Nutrigenomics and beef quality: A review about lipogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, 17(6), 1–21. https://doi.org/10.3390/ijms17060918

Lancaster, P. A., Corners, J. B., Thompson, L. N., Ellersieck, M. R., Buckner, C. D., & Williams, J. E. (2007). Effects of Distillers Dried Grains with Solubles as a Protein Source in Creep Feed. 2. Subsequent Feedlot Performance, Carcass Measurements, and Plasma Parameters. **The Professional Animal Scientist**, 23(2), 91–103. https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30949-9

Lardy, G. P., & Maddock, T. D. (2007). Creep Feeding Nursing Beef Calves. Veterinary Clinics of North America - **Food Animal Practice**, 23(1), 21–28. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2006.11.002

Lim, D., Kim, N. K., Park, H. S., Lee, S. H., Cho, Y. M., Oh, S. J., Kim, T. H., & Kim, H. (2011). Identification of Candidate Genes related to Bovine Marbling using Protein-Protein Interaction Networks. **International Journal of Biological Sciences**, 7(7), 992. https://doi.org/10.7150/IJBS.7.992

Lippolis, J. D., & Reinhardt, T. A. (2008). Centennial paper: Proteomics in animal science. **Journal of Animal Science**, 86(9), 2430–2441. https://doi.org/10.2527/jas.2008-0921

Lomiwes, D., Farouk, M. M., Wu, G., & Young, O. A. (2014). The development of meat tenderness is likely to be compartmentalised by ultimate pH. **Meat Science,** 96(1), 646–651. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2013.08.022

Lopes, S. A., Paulino, M. F., Detmann, E., Valente, É. E. L., Rennó, L. N., Valadares, R. F. D., Cardenas, J. E. G., De Almeida, D. M., De Moura, F. H., & Oliveira, C. A. S. (2017). Evaluation of supplementation plans for suckling beef calves managed on tropical pasture. **Semina:Ciencias Agrarias**, 38(2), 1027–1040. https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n2p1027

Lucas, A. (1998). Programming by Early Nutrition: An Experimental Approach. **The Journal of Nutrition**, 128(2), 401S-406S. https://doi.org/10.1093/JN/128.2.401S

Lynch, E. M., McGee, M., Doyle, S., & Earley, B. (2012). Effect of pre-weaning concentrate supplementation on peripheral distribution of leukocytes, functional activity of neutrophils, acute phase protein and behavioural responses of abruptly weaned and housed beef calves. **BMC Veterinary Research**, 8. https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-1

Lynch, E., McGee, M., & Earley, B. (2019). Weaning management of beef calves with implications for animal health and welfare. **Journal of Applied Animal Research**, 47(1), 167–175. https://doi.org/10.1080/09712119.2019.1594825

Mangrum, K. S., Tuttle, G., Duckett, S. K., Sell, G. S., Krehbiel, C. R., & Long, N. M. (2016). The effect of supplementing rumen undegradable unsaturated fatty acids on marbling in early-weaned steers. **Journal of Animal Science**, 94(2), 833–844. https://doi.org/10.2527/JAS.2015-9809

Martins, L. S., Paulino, M. F., Rennó, L. N., Detmann, E., de Almeida, D. M., Ortega, R. M., Moreno, D. P. S., & Cárdenas, J. E. G. (2017). Creep feeding effects on male Nellore calves influencing behavior and performance of their dams. **Tropical Animal Health and Production**, 49(8), 1669–1676. https://doi.org/10.1007/s11250-017-1375-8

Matarneh, S. K., Silva, S. L., & Gerrard, D. E. (2021). New Insights in Muscle Biology that Alter Meat Quality. **Annual Review of Animal Biosciences** (9) 355-377. https://doi.org/10.1146/annurev-animal-021419

Miguel, G. Z., Faria, M. H., Roça, R. O., Santos, C. T., Suman, S. P., Faitarone, A. B. G., Delbem, N. L. C., Girao, L. V. C., Homem, J. M., Barbosa, E. K., Su, L. S., Resende, F. D., Siqueira, G. R., Moreira, A. D., & Savian, T. V. (2014). Immunocastration improves carcass traits and beef color attributes in Nellore and Nellore×Aberdeen Angus crossbred animals finished in feedlot. **Meat Science**, 96(2), 884–891. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.08.030

Moran, L., O'Sullivan, M. G., Kerry, J. P., Picard, B., McGee, M., O'Riordan, E. G., & Moloney, A. P. (2017). Effect of a grazing period prior to finishing on a high concentrate diet on meat quality from bulls and steers. **Meat Science**, 125, 76–83. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.11.021

Moriel, P., & Arthington, J. D. (2013). Effects of molasses-based creep-feeding supplementation on growth performance of pre- and post-weaned beef calves. **Livestock Science**, 151(2–3), 171–178. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.11.008

Moriel, P., Johnson, S. E., Vendramini, J. M. B., Mccann, M. A., Gerrard, D. E., Mercadante, V. R. G., Hersom, M. J., & Arthington, J. D. (2014). Effects of calf weaning age and subsequent management systems on growth performance and carcass characteristics of beef steers. **Journal of Animal Science**, 92, 3598–3609. https://doi.org/10.2527/jas2014-7751

Moriel, P., Johnson, S. E., Vendramini, J. M. B., Mercadante, V. R. G., Hersom, M. J., & Arthington, J. D. (2014). Effects of calf weaning age and subsequent management system on growth and reproductive performance of beef heifers. **Journal of Animal Science**, 92(7), 3096–3107. https://doi.org/10.2527/JAS.2013-7389

Moriel, P., Vendramini, J. M. B., Arthington, J. D., Aguiar, A. D., & Caputti, G. (2017). Effects of crude protein level and degradability of limited creep-feeding supplements on performance of beef cow-calf pairs grazing limpograss pastures. **Livestock Science**, 200, 1–5. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.03.020

Mueller, L. F., Balieiro, J. C. C., Ferrinho, A. M., Martins, T. da S., da Silva Corte, R. R. P., de Amorim, T. R., de Jesus Mangini Furlan, J., Baldi, F., & Pereira, A. S. C. (2019). Gender status effect on carcass and meat quality traits of feedlot Angus × Nellore cattle. **Animal Science Journal**, 90(8), 1078–1089. https://doi.org/10.1111/ASJ.13250

Nguyen, D. V., Nguyen, O. C., & Malau-Aduli, A. E. O. (2021). Main regulatory factors of marbling level in beef cattle. **Veterinary and Animal Science**, 14, 100219. https://doi.org/10.1016/j.vas.2021.100219

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. In **Meat Science** (Vol. 95, Issue 4, pp. 854–870). https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.010

Owens, F. N., Dubeski, P., & Hanson, C. F. (1993). Factors that alter the growth and development of ruminants. **Journal of Animal Science**, 71(11), 3138–3150. https://doi.org/10.2527/1993.71113138X

Pérez, L. I., Orihuela, A., Galina, C. S., Rubio, I., Corro, M., Cohen, A., & Hernández, A. (2017). Effect of different periods of maternal deprivation on behavioral and cortisol responses at weaning and subsequent growth rate in zebu (Bos indicus) type cattle. **Livestock Science**, 197, 17–21. https://doi.org/10.1016/J.LIVSCI.2016.12.006

Petracci, M., & Cavani, C. (2012). Muscle growth and poultry meat quality issues. **In Nutrients** (Vol. 4, Issue 1). MDPI. https://doi.org/10.3390/nu4010001

Picard, B., Gagaoua, M., Al Jammas, M., & Bonnet, M. (2019). Beef tenderness and intramuscular fat proteomic biomarkers: Effect of gender and rearing practices. **Journal of Proteomics**, 200, 1–10. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.03.010

Picard, B., Lebret, B., Cassar-Malek, I., Liaubet, L., Berri, C., Le Bihan-Duval, E., Hocquette, J. F., & Renand, G. (2015). Recent advances in omic technologies for meat quality management. **Meat Science**, 109, 18–26. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.05.003

Purslow, P. P. (2018). Contribution of collagen and connective tissue to cooked meat toughness; some paradigms reviewed. **Meat Science**, 144, 127–134. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2018.03.026

Purslow, P. P., Archile-Contreras, A. C., & Cha, M. C. (2012). Meat Science And Muscle Biology Symposium: Manipulating meat tenderness by increasing the turnover of intramuscular connective tissue. **Journal of Animal Science**, 90(3), 950–959. https://doi.org/10.2527/JAS.2011-4448

Ramanathan, R., Lambert, L. H., Nair, M. N., Morgan, B., Feuz, R., Mafi, G., & Pfeiffer, M. (2022). Economic Loss, Amount of Beef Discarded, Natural Resources Wastage, and Environmental Impact Due to Beef Discoloration. **Meat and Muscle Biology**, 6(1). https://doi.org/10.22175/mmb.13218

Reis, M. M., Cooke, R. F., Cappellozza, B. I., Marques, R. S., Guarnieri Filho, T. A., Rodrigues, M. C., Bradley, J. S., Mueller, C. J., Keisler, D. H., Johnson, S. E., & Bohnert, D. W. (2015). Creep-feeding to stimulate metabolic imprinting in nursing beef heifers: Impacts on heifer growth, reproductive and physiological variables. **Animal**, 9(9), 1500–1508. https://doi.org/10.1017/S1751731115000828

Salim, A. P. A. A., Ferrari, R. G., Monteiro, M. L. G., & Mano, S. B. (2022). Effect of different feeding systems on color of longissimus muscle from Bos cattle: A systematic review and meta-analysis. **Meat Science**, 192, 108871. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2022.108871

Santiago, B., Baldassini, W., Neto, O. M., Chardulo, L. A., Torres, R., Pereira, G., Curi, R., Chiaratti, M. R., Padilha, P., Alessandroni, L., & Gagaoua, M. (2023). Post-mortem muscle proteome of crossbred bulls and steers: Relationships with carcass and meat quality. **Journal of Proteomics**, 278, 104871. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2023.104871

Santiago, B. M., Baldassini, W. A., Chiaratti, M. R., Pandey, A. K., Torrecilhas, J. A., Torres, R. N. S., Ribeiro, R. V., Lanna, D. P. D., Pereira, G. L., Curi, R. A., Chardulo, L. A. L., & Machado Neto, O. R. (2023). Skeletal muscle gene expression and meat quality of F1 Angus–Nellore young steers and bulls feedlot finished. **Livestock Science**, 268, 105151. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.105151

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

Scheffler, J. M., Mccann, M. A., Greiner, S. P., Jiang, H., Hanigan, M. D., Bridges, G. A., Lake, S. L., & Gerrard, D. E. (2014). Early metabolic imprinting events increase marbling scores in fed cattle. **Journal of Animal Science**, 92(1), 320–324. https://doi.org/10.2527/jas.2012-6209

Schubach, K. M., Cooke, R. F., Brandão, A. P., De Sousa, O. A., Schumaher, T. F., Jump, D. B., Pohler, K. G., Bohnert, D. W., & Marques, R. S. (2019). Supplementing calcium salts of soybean oil to beef steers early in life to enhance carcass development and quality. **Journal of Animal Science**, 97(10), 4182–4192. https://doi.org/10.1093/JAS/SKZ272

Severino, M., Gagaoua, M., Baldassini, W., Ribeiro, R., Torrecilhas, J., Pereira, G., Curi, R., Chardulo, L. A., Padilha, P., & Neto, O. M. (2022). Proteomics Unveils Post-Mortem Changes in Beef Muscle Proteins and Provides Insight into Variations in Meat Quality Traits of Crossbred Young Steers and Heifers Raised in Feedlot. **International Journal of Molecular Sciences**, 23(20), 12259. https://doi.org/10.3390/IJMS232012259/S1

Shahrai, N. N., Babji, A. S., Maskat, M. Y., Razali, A. F., & Yusop, S. M. (2021). Effects of marbling on physical and sensory characteristics of ribeye steaks from

four different cattle breeds. **Animal Bioscience**, 34(5), 904. https://doi.org/10.5713/AJAS.20.0201

Shike, D. W., Faulkner, D. B., Cecava, M. J., Parrett, D. F., & Ireland, F. A. (2007). Effects of Weaning Age, Creep Feeding, and Type of Creep on Steer Performance, Carcass Traits, and Economics. **The Professional Animal Scientist**, 23(4), 325–332. https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30985-2

Silva, L. H. P., Paulino, P. V. R., Assis, G. J. F., Assis, D. E. F., Estrada, M. M., Silva, M. C., Silva, J. C., Martins, T. S., Valadares Filho, S. C., Paulino, M. F., & Chizzotti, M. L. (2017). Effect of post-weaning growth rate on carcass traits and meat quality of Nellore cattle. **Meat Science**, 123, 192–197. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2016.10.005

Smith, S. B., & Crouse, J. D. (1984). Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue. **The Journal of Nutrition**, 114(4), 792–800. https://academic.oup.com/jn/article-abstract/114/4/792/4755721

Souza, A. N. M., Lobato, J. F. P., & Neumann, M. (2007). Efeitos do livre acesso de bezerros ao creep-feeding sobre os desempenhos produtivo e reprodutivo de vacas primíparas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 36(6), 1894–1901. www.sbz.org.br

Stewart, S. M., Gardner, G. E., McGilchrist, P., Pethick, D. W., Polkinghorne, R., Thompson, J. M., & Tarr, G. (2021). Prediction of consumer palatability in beef using visual marbling scores and chemical intramuscular fat percentage. **Meat Science**, 181, 108322. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2020.108322

Suman, S. P., Hunt, M. C., Nair, M. N., & Rentfrow, G. (2014). Improving beef color stability: Practical strategies and underlying mechanisms. **Meat Science**, 98(3), 490–504. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2014.06.032

Tarr, S. L., Faulkner, D. B., Buskirk, D. D., Ireland, F. A., Parrett, D. F., & Berger, L. L. (1994). The Value of Creep Feeding During the Last 84, 56, or 28 Days Prior to Weaning on Growth Performance of Nursing Calves Grazing Endophyte-Infected Tall Fescue. **Journal of Animal Science**, 72(5), 1084–1094. https://academic.oup.com/jas/article-abstract/72/5/1084/4654401

Teixeira, O. S., Rocha, M. K., Alforma, A. M. P., Fernandes, V. S., Feijó, J. de O., Corrêa, M. N., Canozzi, M. E. A., McManus, C., & Barcellos, J. O. J. (2021). Behavioural and physiological responses of male and female beef cattle to weaning at 30, 75 or 180 days of age. **Applied Animal Behaviour Science**, 240. https://doi.org/10.1016/j.applanim.2021.105339

Tipton, J. E., Lewis, L. K., Ricks, R. E., Maresca, S., Valiente, S. L., & Long, N. M. (2020). The effects of age at weaning and length of lipid supplementation on growth,

metabolites, and marbling of young steers. **Animals** (Basel), 10:1819(1819), 1–15. https://doi.org/10.3390/ANI10101819

Torrecilhas, J. A., Vito, E. S., Fiorentini, G., Castagnino, P. de S., Simioni, T. A., Lage, J. F., Baldi, F., Duarte, J. M., Silva, L. G. da, Reis, R. A., & Berchielli, T. T. (2021). Effects of supplementation strategies during the growing phase on meat quality of beef cattle finished in different systems**. Livestock Science**, 247, 104465. https://doi.org/10.1016/J.LIVSCI.2021.104465

Valente, E. E. L., Paulino, M. F., Barros, L. V., Almeida, D. M., Martins, L. S., & Cabral, C. H. A. (2014). Nutritional evaluation of young bulls on tropical pasture receiving supplements with different protein: Carbohydrate ratios. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 27(10), 1452–1460. https://doi.org/10.5713/ajas.2014.14085

Valente, E. E. L., Paulino, M. F., Detmann, E., Valadares Filho, S. C., Barros, L. V., de Paula, N. F., Lopes, S. A., de Almeida, D. M., & Martins, L. S. (2012). Effect of calves' supplementation on performance, nutritional and behavioral characteristics of their dams. **Tropical Animal Health and Production**, 45(1), 487–495. https://doi.org/10.1007/S11250-012-0245-7/TABLES/7

Warner, R. D., Wheeler, T. L., Ha, M., Li, X., Bekhit, A. E.-D., Morton, J., Vaskoska, R., Dunshea, F. R., Liu, R., Purslow, P., & Zhang, W. (2022). Meat tenderness: advances in biology, biochemistry, molecular mechanisms and new technologies. **Meat Science**, 185, 108657. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108657

Warner, R., Miller, R., Ha, M., Wheeler, T. L., Dunshea, F., Li, X., Vaskoska, R., Purslow, P., Warner, R., Miller, R., Ha, M., Wheeler, T., Dunshea, F., Li, X., Vaskoska, R., & Purslow, P. (2021). Meat Tenderness: Underlying Mechanisms, Instrumental Measurement, and Sensory Assessment. **Meat and Muscle Biology**, 4(2), 17–18. https://doi.org/10.22175/MMB.10489

Waterland, R. A., & Garza, C. (1999). Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 69(2), 179–197. https://doi.org/10.1093/AJCN/69.2.179

Whipple, G., Koohmaraie, M., Dikeman, M. E., Crouse, J. D., Hunt, M. C., & Klemm, R. D. (1990). Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in bos taurus and bos indicus cattle. **Journal of Animal Science**, 68(9), 2716–2728. https://doi.org/10.2527/1990.6892716X

Wicks, J., Beline, M., Gomez, J. F. M., Luzardo, S., Silva, S. L., & Gerrard, D. (2019). Muscle Energy Metabolism, Growth, and Meat Quality in Beef Cattle. **Agriculture** 2019, Vol. 9, Page 195, 9(9), 195. https://doi.org/10.3390/AGRICULTURE9090195

Wright, S. A., Ramos, P., Johnson, D. D., Scheffler, J. M., Elzo, M. A., Mateescu, R. G., Bass, A. L., Carr, C. C., & Scheffler, T. L. (2018). Brahman genetics influence muscle fiber properties, protein degradation, and tenderness in an Angus-Brahman multibreed herd. **Meat Science**, 135, 84–93. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.09.006

4.1 CAPÍTULO 2 – DESEMPENHO E QUALIDADE DE CARNE DE NOVILHOS F1 ANGUS-NELORE SUPLEMENTADOS OU NÃO EM CREEP FEEDING E CONFINADOS APÓS O DESMAME

RESUMO - Nosso objetivo foi investigar o efeito da suplementação em creep feeding sob o desempenho, características de carcaça, composição química da carne de novilhos F1 Angus-Nelore confinados após o desmame. Quarenta e cinco bezerros F1 Angus-Nelore, meio irmãos foram suplementados ou não em creep feeding por 172 dias, desmamados e confinados com uma mesma dieta por 200 dias. Diferenças foram consideradas significativas se P<0.05. A suplementação em creep feeding aumentou o ganho médio diário e o peso corporal a desmama em 17kg. Os animais oriundos de creep feeding ganharam 6 vezes mais peso na aclimatação (1,4 vs. 9,9 kg; P<0,0003). O consumo de matéria seca e o ganho médio diário não diferiram, mas o peso corporal final dos animais no creep feeding foi superior (484 vs. 499 kg; P<0,0339). O ganho diário de carcaça, as eficiências alimentar e biológica do grupo controle foram melhores e os animais do grupo creep feeding precisaram ingerir 15.3 kg de matéria seca adicional para produzir 15 kg de carcaça. A espessura de gordura subcutânea (10,6 vs. 12,5 mm; P<0,0076) e o teor de gordura intramuscular (4,9% vs. 5,8%; P<0,0087) no músculo *Longissimus thoracis* foram maiores em animais de creep feeding comparados aos não suplementados. Novilhos do grupo creep feeding tiveram maiores teores de ácidos graxos saturados, insaturados e monoinsaturados (P<0,05). A suplementação de bezerros F1 Angus × Nelore em creep feeding favorece a deposição de gordura intramuscular e a espessura de gordura subcutânea durante a terminação. Após 200 dias de confinamento o ganho de peso não foi afetado, no entanto, reduz a eficiência alimentar e aumenta o custo de produção.

Palavras-chave: creep feeding, marmoreio, *Longissimus thoracis,* confinamento, superprecoce

CHAPTER 2 - PERFORMANCE AND MEAT QUALITY OF F1 ANGUS-NELORE CAVERS SUPPLEMENTED OR NOT ON CREEP FEEDING AND FEEDLOT FINISHED AFTER WEANNING

ABSTRACT - Our objective was to investigate the effect of supplementation in creep feeding on the performance, carcass characteristics and chemical composition of the meat of F1 Angus-Nelore steers in feedlot finished after weaning. Forty-five F1 Angus-Nelore calves, half siblings, were supplemented or not in creep feeding for 172 days, weaned and confined on the same diet for 200 days. Differences were considered significant if $P<0.05$. Creep feeding supplementation increased average daily gain and weaning body weight by 17kg. Animals from creep feeding gained 6 times more weight during acclimatization (1.4 vs. 9.9 kg; $P<0.0003$). Dry matter intake and average daily gain did not differ, but the final body weight of animals in creep feeding was higher (484 vs. 499 kg; $P<0.0339$). The daily carcass gain, feed and biological efficiencies of the control group were better and the animals in the creep feeding group needed to ingest 15.3 kg of additional dry matter to produce 15 kg of carcass. Subcutaneous fat thickness (10.6 vs. 12.5 mm; $P<0.0076$) and intramuscular fat content (4.9% vs. 5.8%; $P<0.0087$) in the Longissimus thoracis muscle were higher in creep feeding animals compared to those not supplemented. Steers from the creep feeding group had higher levels of saturated, unsaturated and monounsaturated fatty acids ($P<0.05$). Supplementation of F1 Angus × Nellore calves in creep feeding favors the deposition of intramuscular fat and the thickness of subcutaneous fat during finishing. After 200 days of confinement, weight gain was not affected, however, it reduces feed efficiency and increases production costs.

Key words: creep feeding, marbling, *Longissimus thoracis*, feedlot finished, young

5.1 Introdução

A gordura intramuscular, ou marmoreio, é uma característica importante pois influencia os atributos de qualidade e palatabilidade da carne bovina (Park, Beak, et al., 2018). Contudo, apenas uma pequena parcela das carcaças bovinas exibe um grau de gordura intramuscular elevado (Moore et al., 2012). Embora o aumento do marmoreio seja desejável na carne, o acúmulo de gordura visceral é um desperdício. No entanto, os métodos utilizados atualmente para aumentar a gordura intramuscular são limitados ao aumento geral da gordura corporal (Park, Beak, et al., 2018; Wang et al., 2016).

O desenvolvimento dos adipócitos começa no início da gestação, mas cerca de 80% do tecido adiposo fetal é depositado apenas nas últimas semanas de gestação, sendo que a formação da gordura intramuscular ocorre do final da gestação até 250 dias após o nascimento (Du et al. 2017). Adicionalmente sabe-se que fenômenos biológicos podem ser induzidos pelas experiências nutricionais impostas no início da vida, e podem causar efeitos permanentes no indivíduo (Waterland e Garza, 1999). Nesse sentido, estratégias que aumentem a produção de carne marmorizada, sem aumentar ou mesmo que reduzam a deposição de gordura não comestível são necessárias.

Uma das alternativas que podem ser utilizadas é o creep feeding, que consiste na suplementação proteica e energética (Moriel e Arthington, 2013), e que pode modular os processos moleculares que envolvem a adipogênese durante a fase de cria. Além disso, o ganho de peso contínuo durante a fase de cria até o abate é uma característica primordial para o sucesso da produção de bovinos de corte (Lopes et al., 2016) e estudos mostram claramente o efeito positivo do creep feeding no peso corporal ao desmame (Barros et al., 2015; Carvalho et al., 2019; Lopes et al., 2014). Assim, nossa hipótese é que a suplementação em creep feeding pode melhorar o desempenho, características de carcaça, teor de gordura intramuscular e perfil de ácidos graxos em novilhos F1 Angus-Nelore terminados em confinamento após o desmame.

Diante disso, objetivou-se investigar o efeito da suplementação em creep feeding sob o desempenho, características de carcaça e composição química da carne em novilhos F1 Angus-Nelore confinados após o desmame.

6.1 Material e Métodos

Todos os procedimentos seguiram os padrões éticos de pesquisa, estabelecidos pela Comissão de Ética no uso de animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FCAV) – Unesp (protocolo n° 013689/19). O experimento foi dividido em duas fases. A fase de cria foi realizada na Fazenda “Nascente do Pinga” – Piracicaba-SP –, de agosto de 2019 a janeiro de 2020. Os animais foram confinados no confinamento experimental da Fazenda Lageado da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp, Campus de Botucatu de janeiro a agosto de 2020.

Animais e delineamento experimental

Quarenta e cinco bezerros machos F1 Angus-Nelore com 38 ± 15 dias de idade e 59 ± 5,83 kg de peso corporal, filhos do mesmo touro (KCF Bennett Fortress R:17259012) e suas mães com peso corporal de 414 ± 45 kg foram estratificados de acordo com a data e número de partos (primípara ou multípara) e distribuídos em 2 piquetes de capim *Brachiaria* (20 hectares). Os tratamentos consistiram em bezerros que receberam suplementação em creep feeding (creep feeding, n=21), ou não receberam suplementação (controle, n=24).

Aos 210 dias, os animais foram desmamados e levados ao confinamento, onde foram distribuídos em 16 baias com 2 ou 3 animais de acordo com seu respectivo tratamento. O peso foi utilizado como fator de blocagem para a distribuição nas baias, e o delineamento utilizado foi em blocos casualizados.

Cria

Os bezerros tiveram livre acesso ao suplemento dentro da praça de alimentação e lazer no piquete. Para ter acesso a água e ao cocho com suplemento mineral, as vacas necessariamente precisavam entrar na área de lazer. Para estimular o consumo de suplemento pelos bezerros todos os animais foram mantidos por pelo menos 1 hora dentro da área de lazer durante os primeiros 30 dias de experimento. Apenas um dos piquetes dispunha da estrutura utilizada para o fornecimento do suplemento e isso impossibilitou alternar os animais entre as áreas.

Nos três primeiros meses, amostras de forragem foram coletadas para determinar a composição química e a disponibilidade de MS total. A massa de

forragem foi mensurada cortando-se com uma tesoura dez amostras coletadas em cada piquete com auxílio de uma moldura circular (0.33 m²) a uma altura residual de 5 cm. As amostras foram secas em estufa de ventilação forçado (55 °C por 72h) e o peso dessas amostras foi multiplicado pela área do piquete para estimar a massa de forragem. Nesse período os piquetes apresentaram disponibilidade média de forragem de 6674 ± 2304 kg/ha para o grupo controle e 8240 ± 632 para o grupo creep. Para caracterizar a composição química da forragem consumida pelos animais foram utilizadas amostras de forragem obtidas por simulação manual de pastejo (Johnson, 1978). As amostras foram secas em estufa (55º por 72 h), processadas em moinho de facas e constituíram uma amostra por piquete. As concentrações de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) foram determinadas por Espectroscopia de Infravermelho Próximo (Foss NIRSystems, Inc., EUA) (Tabela 1). Optou-se por não mais coletar amostra de forragem devido a incapacidade de manter os animais do grupo controle no seu respectivo piquete e com isso obter amostras representativas, contudo, não houve episódios de consumo de suplemento ou mistura de animais de grupos diferentes.

Tabela 1: Concentrações de PB, FDN e FDNi da forragem obtida por simulação manual de pastejo.

Mês	PB		FDN		FDNi	
	Controle	Creep	Controle	Creep	Controle	Creep
Agosto	11,2	7,6	60,4	63,8	10,8	16,1
Setembro	10,8	7,4	55,1	58	11,3	15,1
Outubro	8,6	8,9	67,4	59,9	21,5	15,2

O suplemento foi ofertado de forma *ad libitum* e o consumo mensurado diariamente (08:00h) pesando as sobras e o concentrado. Os bezerros receberam o suplemento em comedouros confeccionados com bombona plástica com disponibilidade linear de 50 cm por animal até os 210 dias de idade. O suplemento fornecido ao lote durante o experimento foi equivalente a 1,11kg ao dia ou 7,36g/kg de peso corporal. Todos os animais tiveram livre acesso a suplementos minerais (Tabela 2) em comedouros de concreto armado.

Tabela 2: Composição dos suplementos minerais e concentrados utilizados no experimento

Elemento	Vacas		Bezerros/Novilhos	
	Seca	Águas	Creep feeding[1]	Concentrado[2]
			g/kg	
Proteína bruta (PB)	200	-	220	161,4
Nutrientes digestíveis totais (NDT)	-	-	653	749
Calcio (Ca)	110	153	35	5
Fósforo (P)	40	90	6	3,65
Sódio (Na)	80	125	4,3	3,06
Potássio (K)	-	-	-	8,83
Magnésio (Mg)	5,9	10	2,78	3,42
Enxofre (S)	20	40	4,1	6,55
			mg/kg	
Manganês (Mn)	552	1290	118	47
Zinco (Zn)	2090	6200	165	74
Cobre (Cu)	554	1670	43	18
Cobalto (Co)	36	100	3,29	1,3
Iodo (I)	41	124	2,6	0,87
Selênio (Se)	10	32	0,73	0,3
Monensina	-	-	48	22
Salinomicina	600	-	-	-
			UI/kg	
Vitamina A	-	-	10000	3174
Vitamina D	-	-	1400	571
Vitamina E	-	-	100	48,5

[1] composto por 44.8% de milho moído, 40.4 de farelo de soja, e 14.8% de núcleo mineral; [2] composto por 75.406% de milho moído, 19.919% de farelo de soja, 0.433% de ureia e 4.25% de núcleo mineral.

Desmame e terminação

Na desmama os bezerros foram pesados para determinar o peso ao final dessa fase e o ganho médio diário, vermifugados e vacinados contra raiva, clostridiose, doença respiratória bovina e transportados por 80 km até o confinamento experimental da fazenda Lageado. Os animais foram mantidos em baias coletivas (1 por grupo) durante 12 dias. O ganho de peso nesse período foi mensurado e apresentado como ganho de peso na aclimatação. A castração foi feita ao longo do confinamento com três aplicações de uma vacina de GnRH (Bopriva, Zoetis®) administradas por via subcutânea no 5º, 29º e 140º dia de confinamento.

Os animais foram pesados após jejum de sólidos (16 h) para determinar o peso corporal inicial no confinamento (PCIc) e distribuídos de acordo com o peso (leve e pesado) e grupo experimental totalizando 8 baias por tratamento com 2 ou 3 animais por baia. As baias estavam localizadas em galpão coberto (10m^2/animal), equipadas com comedouro e bebedouro.

A dieta foi ofertada *ad libitum* duas vezes ao dia (10 h e 16 h) por 188 dias (Tabela 3). As sobras eram coletadas e pesadas diariamente para calcular o consumo e ajustar a oferta de alimento. Ao longo do período experimental, amostras de sobras foram coletadas semanalmente e secas em estufa de ventilação forçada para determinar o consumo de matéria seca da baia (CMS).

Tabela 3: Composição das dietas fornecidas durante o confinamento experimental

Dietas	1	2	3	4	5	6
Item	14 d	10 d	14 d	36 d	45 d	73 d
Bagaço de cana	150	150	150	150	170	90
Feno	0	0	0	0	30	30
Silagem de milho	350	250	150	50	0	0
Concentrado[1]	500	600	700	800	800	880
	Nutrientes					
Proteína bruta	132,0	136,5	141,0	145,5	143,2	152,4
Extrato etéreo	45,1	46,2	47,3	48,4	46,9	50,6
Fibra em detergente neutro	321,4	301,4	281,4	261,4	272,6	216,4
Energia líquida para ganho	1,13	1,16	1,19	1,22	1,18	1,28
Amido	381,9	3407,5	433,1	458,7	445,0	486,8

[1] Composição mencionada na tabela 2.

Ao final do período experimental, os animais foram pesados sem jejum por dois dias consecutivos para estimativa do peso corporal final (PCF). O PCF foi determinado pela média das duas pesagens × 0,96 de acordo com o NRC (2000). O ganho médio diário no confinamento (GMDc) foi calculado pela equação: GMDc = (PCF - PCIc) / período experimental. O CMS e a média do GMDc da baia foram usados para estimar a eficiência alimentar (kg/kg) durante a fase de terminação. A eficiência biológica (EFB) foi calculada por baia a partir da seguinte equação: EFB= CMST/(PCQ-PCI)

Em que:

PCQ: peso de carcaça quente;

PCI: peso de carcaça inicial, estimado de acordo com (Del Bianco Benedeti et al., 2021);

CMST: Consumo de matéria seca da baia durante o período de confinamento;

O ganho de carcaça foi estimado por (PCQ-PCI) /tempo de confinamento.

Abate e amostragem

O abate foi realizado em frigorífico comercial (Cowpig, Boituva, São Paulo, Brasil) após transporte por 120 km e jejum alimentar de 24 h com acesso a água. Os novilhos foram abatidos de acordo com o Regulamento de Inspeção Sanitária e Industrial de Produtos de Origem Animal (Brasil, 1997). As carcaças foram pesadas para obtenção do PCQ. O rendimento de carcaça (RC) foi apresentado em % e obtido de acordo com a seguinte equação:

$RC = (PCQ/PCF) \times 100$

Após 48 h de resfriamento a 2°C e antes da desossa as meias carcaças foram seccionadas entre a 12ª e 13ª costelas para mensurar a área de olho de lombo (AOL) e a espessura de gordura subcutânea (EGS) do músculo *Longissimus thoracis*. A AOL foi registrada em plástico transparente, digitalizadas e analisadas com auxílio do software *Image*J (National Institutes of Health, Maryland, USA). A EGS foi determinada com paquímetro digital e apresentadas em milímetros (mm).

Após a desossa uma porção do LT com aproximadamente 12 cm de comprimento, no sentido cranial, foi retirada, identificada e embalada individualmente a vácuo e transportada para o laboratório. As amostras então foram seccionadas em bifes de 2,54 cm de espessura para as análises químicas.

Composição química e perfil de ácidos graxos da carne

As análises de composição química da carne foram realizadas usando um FoodScan LabTM (Foss NIRSystems, Laurel, MD, EUA). As amostras foram descongeladas a 4°C por 24 h e a gordura subcutânea removida com o auxílio de um bisturi. O bife foi moído e homogeneizado por 5 min e alíquotas de aproximadamente 180 g retiradas. Três leituras foram tomadas com o FoodScan, entre cada leitura a amostra era retirada, homogeneizada e recondicionada na placa. As médias para os valores de gordura, umidade, proteína e colágeno total foram expressos em porcentagem.

Para o perfil de ácidos graxos, a extração de lipídeos foi realizada de acordo com o método de Hara and Radin, (1978). Foi realizada a partir de uma amostra de aproximadamente 3,0 g do músculo LT dissecado, utilizando solventes hexano/isopropanol (3: 2 vv–1). Para a transesterificação de ácidos graxos (AG) utilizou uma solução metanol de metóxido de sódio de acordo com a metodologia descrita por Christie, (1982).

Os ésteres metílicos de AGs foram analisados em cromatografia gasosa, utilizando um cromatógrafo (modelo Focus GC-Finnigan; Thermo Finnigan, San Jose, Califórnia, Estados Unidos), equipado com detector de ionização de chama (DIC) e coluna capilar de sílica fundida com dimensões de 100 m × 0,25 mm × 0,20 µm (CP-Sil 88; Varian, Palo Alto, Califórnia, Estados Unidos). O gás carreador utilizado foi o hidrogênio com vazão de 1,8 ml/min. A temperatura inicial do forno foi de 70°C, mantida por 4 min. Então, aumentou em 13°C/min até 175°C, por 27 min. Logo, foi aumentada de 4°C/min até 215°C, por 9 min, seguida de outro aumento de 7°C/min até 230°C, onde foi mantida por 5 min, totalizando 65 min. A temperatura do injetor foi de 225°C e do detector de 260°C.

A identificação dos AGs foi realizada por comparação dos tempos de retenção com os obtidos com amostras padrão de ésteres metílicos nas amostras com padrões de ácidos graxos usando Supelco TM Component Mix (cat. 18919; Supelco, Bellefonte, Pensilvânia, Estados Unidos) e ácido c9 rumênico, t11 CLA (cat. 05632; Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, Missouri, Estados Unidos). A quantificação dos ácidos graxos foi realizada por meio do software Chromquest 4.1 (Thermo Electron, Milão, Itália).

Calculou-se os totais de AGs saturados (SFA), AGs insaturados (UFA), AGs monoinsaturados (MUFA), AGs poliinsaturados (PUFA) e as razões UFA/SFA, MUFA/SFA e PUFA/SFA. Os índices de atividades enzimáticas da Δ9-dessaturase para os AGs C16 e C18 e elongase foram estimados de acordo com (Malau-Aduli et al., 1997).

Δ9 - dessaturase C16 = 100*[(C16:1cis9) / (C16:1cis9 + C16:0)]

Δ9 - dessaturase C18 = 100*[(C18:1cis9) / (C18:1cis9 + C18:0)]

Elongase = 100*[(C18:0 + C18:1cis9) / (C16:0 + C16:1cis9 + C18:0 + C18:1cis9)]

Análise econômica

Os custos em MS (R$/kg) dos ingredientes foram atualizados de acordo com cotações obtidas de fornecedores localizados no estado de São Paulo em agosto de 2023. Para custo diário não nutricional, um valor de 2,48 (R$/animal /dia) foi considerado. Tais custos foram obtidos por meio do Relatório Mensal do Índice de Custos de Produção de Bovinos em Confinamento (Relatório nº 74 de julho de 2023), elaborado pelo Laboratório de Análise Socioeconômica e Zootecnia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (https://www.lae-fmvz-usp.com/). Devido à complexidade para precificar adequadamente o valor do animal, optou-se por adotar um valor de mercado (https://www.scotconsultoria.com.br/cotacoes/reposicao/) para o kg de peso do bezerro e então calcular o valor de aquisição do animal.

Os custos foram calculados da seguinte forma:

Custo de aquisição do bezerro (R$/animal) = kg x R$/kg;

Outros custos = frete, protocolo sanitário;

Custo diário (R$/dia) = (CMS (kg/dia) × dieta (R$/kg MS)) + custo diário não nutricional;

Custo total no confinamento (R$/animal) = dias de confinamento × custo diário (R$/dia);

Custo total de produção do animal (R$/animal) = custo de aquisição do bezerro + custo total no confinamento + outros custos;

Custo da @ colocada = Custo total no confinamento / total de @ do confinamento;

Custo da @ produzida = Custo total de produção do animal / total de @;

Análises estatísticas

Os dados foram analisados em delineamento em blocos casualizados usando o PROC MIXED do SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC). O tratamento foi incluído como efeito fixo e o bloco como efeito aleatório. A baia foi a unidade experimental para as variáveis obtidas diretamente durante o período de confinamento, enquanto que para as demais variáveis, o animal foi a unidade experimental. Gráficos de resíduos e a estatística W (Shapiro e Wilk, 1965) foram avaliados para determinar a normalidade para todos os dados, e outliers (+ 3 ou −3 desvios padrão) foram excluídos. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para

testar os efeitos do creep feeding para as variáveis de desempenho e características de carcaça. Diferenças foram consideradas significativas quando *P* ≤ 0,05.

7.1 Resultados

Desempenho e características de carcaça

Na fase de cria, como projetado, o peso corporal inicial não diferiu entre os grupos (*P*=0,4274) (Tabela 4). A suplementação em creep feeding aumentou o ganho médio diário (*P*<0,0001) e o peso corporal a desmama (*P*=0,0002).

Tabela 4: Desempenho de novilhos F1 Angus-Nelore suplementados ou não em creep feeding e confinados após o desmame.

Variável	Controle	Creep	EPM	P-valor
Cria				
Peso corporal inicial kg	59,35	57,76	1,4260	0,4274
Peso corporal a desmama kg	227,26	242,91	3,6440	0,0002
Ganho médio diário (GMD) kg	0,97	1,05	0,0156	<0,0001
Confinamento				
Ganho de peso na aclimatação kg	1,42	9,88	1,2322	0,0003
Peso corporal inicial kg	228,67	252,24	3,9851	<0,0001
Consumo de matéria seca kg/dia	9,11	9,45	0,1888	0,1968
Consumo de matéria seca g/kg PC^{-1}	25,72	25,27	0,2364	0,3687
Ganho médio diário (GMDc) kg/dia	1,36	1,32	0,0169	0,3107
Eficiência alimentar g de PC/kg de MS	150	143	0,0029	0,0038
Peso corporal final kg	484,64	499,92	4,4197	0,0399

Os animais oriundos de creep feeding ganharam 8.5 kg a mais na aclimatação (*P*=0,0003) e consequentemente a diferença no peso corporal inicial no confinamento aumentou para 23.57 kg (*P*<0,0001). Apesar do consumo de matéria seca (CMS, kg/dia e g/kg PC) e ganho médio diário (*P*=0,3107) não diferiram entre os tratamentos, animais oriundos do creep feeding apresentaram maior peso corporal final (*P*=0,0399). Por outro lado, a eficiência alimentar do grupo creep feeding foi menor (*P*=0,0038), além de apresentaram pior eficiência biológica (*P*=0,0065), e precisaram ingerir 15,3 kg de MS adicional para produzir 15 kg de carcaça em comparação aos animais controle.

O ganho diário de carcaça do grupo controle foi 58g superior (*P*=0,0077) ao grupo recebendo creep feeding. A espessura de gordura subcutânea foi maior no grupo suplementado (*P*=0,0076) quando comparado ao grupo controle (Tabela 5). Já a área de olho de lombo (*P*=0,0760), rendimento (*P*=0,1106) e peso de carcaça quente (*P*=0,1113) não foram influenciados pelos tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5: Características de carcaça de novilhos F1 Angus-Nelore suplementados ou não em creep feeding e confinados após o desmame.

Variável	Controle	Creep	EPM	P-valor
Ganho de carcaça (kg/dia)	0,818	0,760	0,0104	0,0077
Eficiência biológica kg MS/15kg carcaça	168,06	183,39	3,9119	0,0065
Peso de carcaça quente (kg)	269,22	275,11	2,4999	0,1113
Rendimento de carcaça quente (%)	55,55	55,01	0,1820	0,1106
Area de olho de lombo (cm²)	68,46	65,54	0,8118	0,0760
Espessura de gordura subcutânea (mm)	10,61	12,55	0,4486	0,0076

Composição química da carne e perfil de ácidos graxos

O teor de gordura intramuscular no músculo LT aumentou 17% no grupo que recebeu creep feeding (*P*=0,0087), enquanto a umidade reduziu (*P*=0,0232). Proteína e colágeno não diferiram (*P*>0,05) entre os grupos (Tabela 6).

Tabela 6: Composição química do músculo *Longissimus thoracis* de novilhos F1 Angus-Nelore suplementados ou não em creep feeding e confinados após o desmame.

Variável	Controle	Creep	EPM	*P-valor*
Umidade, %	70,64	69,94	0,1561	0,0232
Proteína, %	22,95	23,11	0,0827	0,3609
Gordura, %	4,95	5,79	0,1628	0,0087
Colágeno, %	1,42	1,43	0,0226	0,8685

Novilhos do grupo creep feeding tiveram maiores (*P*<0,05) teores de ácido esteárico (C18:0), oleico (C18:1 cis 9), ácidos graxos saturados (*P*=0,0488), insaturados (*P*=0,0419) e monossaturados (*P*=0,0490) foram maiores no grupo creep feeding (Tabela 7). Contudo, o Σn3, Σn6, elongase, Δ9–dessaturase não foram afetados pelos tratamentos (*P*>0,05).

Tabela 7: Perfil de ácidos graxos do músculo *Longissimus thoracis* de novilhos F1 Angus-Nelore suplementados ou não em creep feeding e confinados após o desmame.

Variável	Controle	Creep	EPM	*P-valor*
Cáprico (C10:0)	3,41	3,89	0,1468	0,1051
Láurico (C12:0)	4,74	5,25	0,1955	0,2040
Mirístico (C14:0)	178,22	197,37	7,2117	0,1942
Miristoléico (C14:1 cis-9)	60,14	64,14	3,1078	0,5301
Pentadecanóico (C15:0)	19,36	20,91	0,8405	0,3697
Palmítico (C16:0)	1366,79	1549,17	47,9074	0,0562
Palmitoléico (C16:1 cis-9)	216,54	233,01	8,5773	0,3505
Margárico (C17:0)	41,63	46,74	1,5921	0,1125
Variável	Controle	Creep	EPM	*P-valor*
Heptadecanóico (C17:1)	36,18	39,51	1,3381	0,2097
Esteárico (C18:0)	518,41	597,81	18,728	0,0351
Oleico (C18:1 cis 9)	1901,74	2188,70	68,483	0,0342
Linoleico (C18:2 cis-9 cis-12)	146,47	147,18	3,9857	0,9023
Araquídico (C20:0)	1,75	1,79	0,0805	0,8151
Gama-linolênico (C18:3 n6)	0,58	0,61	0,0476	0,7687
Alfa-linolênico (C18:3 n3)	4,51	4,47	0,2842	0,9454
CLA (C18:2 cis-9 trans-11)	6,62	7,85	0,4338	0,1645
Di-homo-y-linolênico (C20:3 n6)	8,54	8,98	0,4141	0,5900
Araquidônico (C20:4 n6)	33,51	32,91	1,5879	0,8840
Eicosapentaenóico (C20:5 n3)	3,80	3,38	0,2357	0,3871
Docosapentaenóico (C22:5)	11,03	10,55	0,4853	0,6402
Docosahexaenóico (C22:6 n3)	1,12	1,09	0,0926	0,8768
Saturado	2157,23	2452,14	74,757	0,0488
Insaturado	2748,37	3081,36	81,692	0,0419
Monoinsaturado	2514,83	2861,12	88,647	0,0490
Poliinsaturados	215,67	215,25	6,1521	0,9947
Insaturado/Saturado	1,281	1,268	0,0161	0,6958
Monoinsaturado/Saturado	1,174	1,173	0,0163	0,9946
Poliinsaturado/Saturado	0,101	0,095	0,0036	0,4467
Σn3	9,27	8,89	0,4193	0,6640
Σn6	42,47	42,5	1,9190	0,9577
n6/n3	4,99	4,95	0,2208	0,9540
Atividade dessaturase Δ9- C16	13,35	13,09	0,1714	0,4006
Atividade dessaturase Δ9-C18	78,52	78,55	0,2589	0,9133
Elongase	60,70	60,95	0,3580	0,7363

Avaliação econômica

O valor de aquisição dos animais do grupo creep feeding foi R$219,20 superior aos animais do grupo controle, o que representou um investimento adicional de 10% (Tabela 8). Além disso, o incremento no custo diário foi de R$0,39, e de R$73,51 ao longo do período total de confinamento. Esses valores totalizam R$292,71 de diferença no custo de produção entre os dois grupos. No entanto, ao utilizar o peso de carcaça como base, essa diferença reduz para R$10,40 por arroba produzida.

Tabela 8: Análise econômica durante o confinamento de novilhos F1 Angus-Nelore oriundos de suplementação ou não em creep feeding e confinados após o desmame.

Item	Tratamento	
	Controle	Creep Feeding
Peso inicial no confinamento	228,67 kg	252,24 kg
R$ por kg de bezerro	R$ 9,30	R$ 9,30
Custo de aquisição do bezerro R$	R$ 2.126,63	R$ 2.345,83
Outros Custos	R$ 100,00	R$ 100,00
Peso final	484,64 kg	499,92 kg
Consumo de matéria seca	9,11 kg	9,45 kg
Dieta (R$ kg de matéria seca)	R$ 1,15	R$ 1,15
Custo diário não nutricional	R$ 2,48	R$ 2,48
Custo diário	R$ 12,96	R$ 13,35
Custo total no confinamento	R$ 2,435,82	R$ 2,509,33
Peso de carcaça quente, kg	269,22 kg	275,11 kg
Custo total de produção do animal	R$ 4.662,45	R$ 4.955,16
Custo da @ colocada	R$ 235,90	R$ 252,63
Custo da @ produzida	R$ 259,78	R$ 270,17

8.1 Discussão

Desempenho e características de carcaça

A oferta média de suplemento no creep feeding foi de 1,11 kg o que resultou em 17,82 kg de ganho de peso adicional. Essa oferta equivale a 7,36 g por kg de PC e eficiência próxima a 100 g de ganho de peso adicional por kg de MS de suplemento consumido. Carvalho et al. (2019) estimou através de estudo metanalítico que o consumo de 7,6 g/kg otimiza o ganho de peso adicional e incrementa 0,2kg/dia. Apesar do consumo ter ficado próximo ao sugerido, o ganho de peso adicional obtido foi de 0,1kg/dia. A produção de leite da vaca não foi avaliada para estimar o consumo de leite e sua contribuição na ingestão diária de nutrientes durante o experimento. No entanto, todas as vacas receberam os mesmos suplementos minerais durante a lactação e tiveram idade e dias em lactação (com base na idade do bezerro) semelhantes.

O ganho de peso adicional é estimado a partir da comparação entre grupos que foram suplementados ou não. A baixa eficiência de ganho adicional possivelmente ocorreu devido ao ganho de peso elevado dos animais do grupo controle, consequentemente, a eficiência e o ganho adicional atribuídos à suplementação foram reduzidos. O piquete dos animais controle era composto por uma forrageira de 1º ano, enquanto o grupo creep feeding era mantido em uma área de 3 anos de implantação. Esse fator influenciou na composição química e possibilitou a oferta de uma forragem de melhor qualidade ao grupo controle (Tabela 1).

Embora, independentemente da qualidade da pastagem a suplementação aumente o ganho de peso (Detmann et al., 2014), o desempenho de animais sob pastejo tem correlação negativa com o FDNi e positiva com o teor de PB da forragem (Almeida et al., 2022). Corroborando com nossos argumentos, no estudo de Gadberry et al. (2012) o creep feeding melhorou o ganho de peso dos bezerros em ambientes de menor qualidade de forragem (capim-bermuda e pastagens nativas), mas não afetou o desempenho quando os animais estavam pastejando forragem de melhor qualidade (azevém). Portanto, é factível que a diferença nutricional da forragem tenha minimizado o ganho de peso atribuído ao creep feeding.

Apesar do possível impacto do creep feeding no ganho de peso ter sido minimizada pelos fatores já mencionados, devemos ressaltar que o teor de amido em gramíneas tropicais é baixo (<3%). A glicose contribui como fonte de carbonos para a síntese de ácidos graxos intramuscular (Smith 1984) e exerce efeito na proliferação e crescimento dos adipócitos. Nesse sentido, o fornecimento de amido, e consequentemente glicose como ferramenta de manipulação fenotípica foi exclusiva aos animais suplementados em creep feeding.

A separação da mãe e o transporte são eventos muito estressantes para os bezerros, mas o contato prévio com alimentos ou dietas similares as que serão fornecidos após o desmame ajuda a reduzir a dependência social da mãe (Enríquez et al., 2011). O creep feeding pode ser um método para aumentar a ingestão de minerais e vitaminas e melhorar o estado imunológico dos bezerros na pré-desmama (Moriel & Arthington, 2013b). Além disso, no início do período pós desmama os bezerros previamente suplementados com concentrado tem menor concentração plasmática de cortisol (Campistol et al., 2016), passam menos tempo em atividade e tem melhor resposta imune (Lynch et al., 2012). Considerando que uma oferta antecedente de suplemento concentrado pode estimular o consumo no início do confinamento (Pereira et al., 2020), não é surpreendente que o creep feeding promova efeito semelhante.

Durante o confinamento os dois grupos receberam dieta e manejo alimentar idênticos e ao final dessa etapa o consumo e ganho de peso foram semelhantes e consequentemente os animais de creep feeding continuaram com maior peso corporal. O ganho diário de carcaça dos animais controle foi 7,5% superior ao grupo creep feeding e isso contribuiu para que o peso de carcaça quente dos dois grupos fosse semelhante. Nossos resultados estão de acordo com outros estudos que também identificaram que animais que experimentaram um menor ganho anterior depositam mais carcaça ao longo do confinamento (Silva et al., 2020; Simioni et al., 2021). Além disso, em animais com desempenho prévio inferior o crescimento do tecido muscular é priorizado e a deposição de tecido adiposo se torna mais tardia (Silva et al., 2017), inclusive de tecido adiposo visceral (Keogh et al., 2015).

Diferenças de deposição de proteína e gordura podem influenciar a eficiência alimentar, principalmente, porque a gordura tem maior densidade energética do que a proteína (Cantalapiedra-Hijar et al., 2018). Gotoh et al., (2009) estimaram que 1% de aumento no teor de gordura intramuscular no LT, dependendo do grupo

genético, pode causar o incremento de 3.0 a 10.7 kg de gordura subcutânea. O ganho de carcaça, eficiência alimentar e biológica foram melhores no grupo controle, enquanto as gorduras subcutânea e intramuscular aumentaram no grupo creep feeding. Esses resultados apontam para uma modificação na composição do ganho devido ao aumento da adiposidade geral da carcaça pelo creep feeding.

A gordura subcutânea funciona como um isolante térmico e permite que a perda de calor da carcaça ocorra mais lentamente durante a conversão do músculo em carne, evitando o encurtamento pelo frio, o escurecimento da carcaça, desidratação excessiva e redução da maciez (James & James, 2014; Matarneh et al., 2017). Embora a EGS tenha diferido entre os grupos, com exceção de um efeito de interação nas perdas por cocção e uma alteração na luminosidade, as características físicas gerais da carne não foram afetadas. Os produtores de gado de corte devem ter como meta o EGS de pelo menos 6,00 mm para evitar os efeitos negativos do encurtamento da fibra muscular (Chardulo et al., 2013) e de 10mm para garantir uma boa maciez da carne (Baldassini et al., 2016). Dessa forma podemos inferir que a EGS do grupo controle foi elevada o suficiente para garantir que os processos post mortem ocorressem adequadamente.

Composição química da carne e perfil de ácidos graxos

O teor de gordura intramuscular pode influenciar positivamente os atributos sensoriais da carne, como maciez, suculência, sabor e aceitação geral (O'Quinn et al., 2012; Lee and Choi, 2019). O conteúdo de gordura intramuscular é determinado pelo aumento no número e no tamanho dos adipócitos intramusculares (Cianzio et al., 1985), dos quais a hiperplasia é especialmente importante porque fornece locais para posterior deposição de gordura (Li et al., 2020). A hiperplasia celular ocorre através do recrutamento para a linhagem adipogênica, e no tecido adiposo intramuscular é mais pronunciada entre o final da gestação e os 250 dias de idade (Du et al., 2013, 2017). Relatos anteriores indicam que a alimentação precoce de novilhos com uma dieta de alto concentrado pode aumentar o marmoreio em comparação com novilhos alimentados apenas com forragem durante o período pré desmame (Scheffler et al., 2014 e Waterman et al., 2012).

O aumento do teor de gordura intramuscular nos animais que receberam creep feeding pode ser devido a exposição precoce a dietas ricas em amido no qual podem induzir a diferenciação intramuscular de pré-adipócitos através da

expressão elevada de *PPARG* (Graugnard et al., 2010; Moriel et al., 2014). Adicionalmente em um estudo complementar, Ramírez-Zamudio et al. (2023) mostraram que a suplementação em creep feeding afetou o metabolismo energético através da regulação positiva de genes relacionados a sinalização *PPAR* (*PPARA, SLC27A1, FABP3 e DBI*), e assim favoreceu a deposição de gordura intramuscular no período pós-desmame.

O perfil de ácidos graxos intramuscular tem relação com a palatabilidade, suculência e com o sabor da carne, características que ajudam a promover maior valorização aos cortes comerciais da carne bovina (Park, Kang, et al., 2018). Os animais do grupo creep feeding apresentaram maiores níveis de ácido esteárico, oleico, ácidos graxos saturados, insaturados e monoinsaturados. Logo, existe uma correlação entre o teor de gordura intramuscular e a concentração de ácidos graxos monoinsaturados (Smith et al., 2009) e saturados (Bressan et al., 2011). Portanto, a carne com mais gordura intramuscular tem proporcionalmente mais AGs saturado e monoinsaturado, o que está de acordo com nossos achados.

Os triglicerídeos armazenados nos adipócitos podem se originar da captação de ácidos graxos da dieta ou da síntese de novo (Ladeira et al., 2016). Em nosso estudo complementar, Ramírez-Zamudio et al., (2023) identificaram que o uso de creep feeding influenciou os processos lipogênicos ao regular positivamente genes relacionados à biossíntese (*FASN, SCD, SCD5, FADS1 e FADS2*) e absorção de ácidos graxos (*FABP3*), enquanto a expressão de fatores de transcrição relacionados à β-oxidação (*CPT1A, CPT1B e UCP3*) foi reduzida. Os dois grupos no presente estudo receberam a mesma dieta, portanto a única possibilidade de modificação do perfil lipídico da carne se deve aos mecanismos relacionados a biossíntese de ácidos graxos que foi mais intensa nos animais de creep feeding.

O ácido oleico contribui positivamente para as características de sabor da carne bovina (Garmyn et al., 2011; Jung et al., 2016), e foi o ácido graxo mais abundante dentro da gordura intramuscular, consistente com estudos anteriores (Frank et al., 2016; Santiago et al., 2023). O ácido oleico é formado a partir do ácido esteárico (18:0) pela enzima estearoil-CoA dessaturase (SCD), uma das principais enzimas lipogênicas (Wood et al., 2008). O gene SCD1 que codifica essa enzima foi mais ativo no estudo de Ramírez-Zamudio et al. (2023).

Avaliação econômica

Melhorar os atributos de qualidade, é um desafio importante para os produtores e a indústria de carne bovina. Para suprir sua própria demanda, alguns frigoríficos brasileiros pagam melhor por carcaças de qualidade superior. Bovinos com maior sangue *Bos taurus taurus*, novilhos ou novilhas jovens, terminados em confinamento conhecidos como “precoces” ou em alguns casos “superprecoces”. O custo adicional para cada 15kg de carcaça foi R$10,40 ou 4%. Comumente, os programas de bonificação ofertam valores superiores a essa diferença. É importante ressaltar que mesmo a carne do grupo controle, tem características muito superiores as que são produzidas normalmente no Brasil. Outro aspecto interessante a se observar é a diversificação de produtos que o pecuarista pode dispor. Devido a elasticidade demanda, os momentos economicamente ruins rapidamente afetam os valores ofertados pela carne bovina. Porém, produtos de maior valor agregado tendem a sofrer menos com esse fator, pois o público consumidor tem uma renda suficientemente alta para manter seu padrão de consumo e sofrer menos com esse efeito.

9.1 Conclusão

A suplementação de bezerros F1 Angus × Nelore em creep feeding favorece a deposição de gordura intramuscular e a espessura de gordura subcutânea durante a terminação. O creep feeding pode ser utilizado como ferramenta para aumentar o peso a desmama, e o ganho de peso dos animais no início do período pós-desmama. Após 200 dias de confinamento o ganho de peso não foi afetado, no entanto, reduz a eficiência alimentar e aumenta o custo de produção.

10.1 Referências

Almeida, D. M., Silva, A. L., Paulino, M. F., Silva, T. E., Detmann, E., & Marcondes, M. I. (2022). Performance of Bos indicus beef cattle supplemented with mineral or with concentrates in tropical Urochloa decumbens pastures: A meta-regression approach. **Animal Feed Science and Technology**, 283, 115178. https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2021.115178

Baldassini, W. A., Chardulo, L. A. L., Silva, J. A. V., Malheiros, J. M., Dias, V. A. D., Espigolan, R., Baldi, F. S., Albuquerque, L. G., Fernandes, T. T., & Padilha, P. M. (2016). Meat quality traits of Nellore bulls according to different degrees of backfat thickness: a multivariate approach. **Animal Production Science**, 57(2), 363–370. https://doi.org/10.1071/AN15120

Barros, L. V., Paulino, M. F., Marques, D. E. C., Cabral, C. H. A., Da Silva, F. G., Caldeira, D. S. A., Lopes, S. A., & De Moura, F. H. (2015). Supplementation of suckling beef calves on a creep-feeding system and nutritional evaluation of lactating beef dams. **Semina:Ciencias Agrarias**, 36(5), 3431–3444. https://doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n5p3431

Bressan, M. C., Rossato, L. V., Rodrigues, E. C., Alves, S. P., Bessa, R. J. B., Ramos, E. M., & Gama, L. T. (2011). Genotype × environment interactions for fatty acid profiles in Bos indicus and Bos taurus finished on pasture or grain. **Journal of Animal Science**, 89(1), 221–232. https://doi.org/10.2527/JAS.2009-2672

Campistol, C., Kattesh, H. G., Waller, J. C., Rawls, E. L., Arthington, J. D., Carroll, J. A., Pighetti, G. M., & Saxton, A. M. (2016). Effects of pre-weaning feed supplementation and total versus fenceline weaning on the physiology and performance of beef steers. **International Journal of Livestock Production**, 7(8), 48–54. https://doi.org/10.5897/ijlp2016.0291

Cantalapiedra-Hijar, G., Abo-Ismail, M., Carstens, G. E., Guan, L. L., Hegarty, R., Kenny, D. A., Mcgee, M., Plastow, G., Relling, A., & Ortigues-Marty, I. (2018). Review: Biological determinants of between-animal variation in feed efficiency of growing beef cattle. **Animal**, 12(s2), s321–s335. https://doi.org/10.1017/S1751731118001489

Carvalho, V. V., Paulino, M. F., Detmann, E., Filho, S. C. V., Lopes, S. A., Rennó, L. N., Sampaio, C. B., & Silva, A. G. (2019). A meta-analysis of the effects of creep-feeding supplementation on performance and nutritional characteristics by beef calves grazing on tropical pastures**. Livestock Science**, 227, 175–182. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.07.009

Chardulo, L. A. L., Silveira, A. C., & Vianello, F. (2013). Analytical Aspects for Tropical Meat Quality Assessment. In Food Quality, Safety and Technology (pp. 53–62). **Springer Vienna**. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1640-1_4

Christie, W. W. (1982). A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters. **Journal of Lipid Research**, 23(7), 1072–1075. https://doi.org/10.1016/s0022-2275(20)38081-0

Del Bianco Benedeti, P., Valadares Filho, S. C., Chizzotti, M. L., Marcondes, M. I., & de Sales Silva, F. A. (2021). Development of equations to predict carcass weight, empty body gain, and retained energy of Zebu beef cattle. **Animal,** 15(1), 100028. https://doi.org/10.1016/j.animal.2020.100028

Detmann, E., Valente, É. E. L., Batista, E. D., & Huhtanen, P. (2014). An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livestock Science**, 162(1), 141–153. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.01.029

Enríquez, D., Hötzel, M. J., & Ungerfeld, R. (2011). Minimising the stress of weaning of beef calves: A review. **In Acta Veterinaria Scandinavica** (Vol. 53, Issue 1). BioMed Central Ltd. https://doi.org/10.1186/1751-0147-53-28

Frank, D., Ball, A., Hughes, J., Krishnamurthy, R., Piyasiri, U., Stark, J., Watkins, P., & Warner, R. (2016). Sensory and flavor chemistry characteristics of Australian beef: Influence of intramuscular fat, feed, and breed. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 64(21), 4299–4311. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00160

Gadberry, M. S., Beck, P. A., Gunter, S. A., Barham, B. L., Whitworth, W. A., & Apple, J. K. (2012). Effect of corn- and soybean hull-based creep feed and backgrounding diets on lifelong performance and carcass traits of calves from pasture and rangeland conditions. **Professional Animal Scientist**, 28(5), 507–518. https://doi.org/10.15232/S1080-7446(15)30399-5

Garmyn, A. J., Hilton, G. G., Mateescu, R. G., Morgan, J. B., Reecy, J. M., Tait, J. G., Beitz, D. C., Duan, Q., Schoonmaker, J. P., Mayes, M. S., Drewnoski, M. E., Liu, Q., & Vanoverbeke, D. L. (2011). Estimation of relationships between mineral concentration and fatty acid composition of longissimus muscle and beef palatability traits. **Journal of Animal Science**, 89(9), 2849–2858. https://doi.org/10.2527/jas.2010-3497

Gotoh, T., Albrecht, E., Teuscher, F., Kawabata, K., Sakashita, K., Iwamoto, H., & Wegner, J. (2009). Differences in muscle and fat accretion in Japanese Black and European cattle. **Meat Science**, 82(3), 300–308. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.01.026

Graugnard, D. E., Berger, L. L., Faulkner, D. B., & Loor, J. J. (2010). High-starch diets induce precocious adipogenic gene network up-regulation in longissimus lumborum of early-weaned Angus cattle. **British Journal of Nutrition**, 103(7), 953–963. https://doi.org/10.1017/S0007114509992789

Hara, A., & Radin, N. S. (1978). Lipid Extraction of Tissues with a Low-Toxicity Solvent. In **ANALYTICAL BIOCHEMISTRY** (Vol. 90).

James, S. J., & James, C. (2014). MEAT MARKETING | Cold Chain. **Encyclopedia of Meat Sciences,** 225–230. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00179-3

Johnson, A. D. (1978). Sample preparation and chemical analysis of vegetation. **Measurement of Grassland Vegetation and Animal Production**, 96–102.

Jung, E. Y., Hwang, Y. H., & Joo, S. T. (2016). The relationship between chemical compositions, meat quality, and palatability of the 10 primal cuts from hanwoo steer. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, 36(2), 145–151. https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.2.145

Keogh, K., Waters, S. M., Kelly, A. K., & Kenny, D. A. (2015). Feed restriction and subsequent realimentation in Holstein Friesian bulls: I. Effect on animal performance; muscle, fat, and linear body measurements; and slaughter characteristics. **Journal of Animal Science**, 93(7), 3578–3589.

Ladeira, M. M., Schoonmaker, J. P., Gionbelli, M. P., Dias, J. C. O., Gionbelli, T. R. S., Carvalho, J. R. R., & Teixeira, P. D. (2016). Nutrigenomics and beef quality: A review about lipogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, 17(6), 1–21. https://doi.org/10.3390/ijms17060918

Lopes, S. A., Paulino, M. F., Detmann, E., de Campos Valadares Filho, S., Valente, É. E. L., Barros, L. V., Cardenas, J. E. G., Almeida, D. M., Martins, L. S., & Silva, A. G. (2014). Supplementation of suckling beef calves with different levels of crude protein on tropical pasture. **Tropical Animal Health and Production**, 46(2), 379–384. https://doi.org/10.1007/s11250-013-0500-6

Lopes, S. A., Paulino, M. F., Detmann, E., Valente, É. E. L., de Barros, L. V., Rennó, L. N., de Campos Valadares Filho, S., & Martins, L. S. (2016). Does supplementation of beef calves by creep feeding systems influence milk production and body condition of the dams? **Tropical Animal Health and Production**, 48(6), 1241–1246. https://doi.org/10.1007/s11250-016-1083-9

Lynch, E. M., McGee, M., Doyle, S., & Earley, B. (2012). Effect of pre-weaning concentrate supplementation on peripheral distribution of leukocytes, functional activity of neutrophils, acute phase protein and behavioural responses of abruptly weaned and housed beef calves. **BMC Veterinary Research**, 8. https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-1

Malau-Aduli, A. E. O., Siebert, B. D., Bottema, C. D. K., & Pitchford, W. S. (1997). A comparison of the fatty acid composition of triacylglycerols in adipose tissue from Limousin and Jersey cattle. **Aust. J. Agric. Res**, 48, 715–737. https://doi.org/10.1071/AR96083

Matarneh, S. K., England, E. M., Scheffler, T. L., & Gerrard, D. E. (2017). The Conversion of Muscle to Meat. **Lawrie's Meat Science**: Eighth Edition, 159–185. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100694-8.00005-4

Moore, M. C., Gray, G. D., Hale, D. S., Kerth, C. R., Griffin, D. B., Savell, J. W., Raines, C. R., Belk, K. E., Woerner, D. R., Tatum, J. D., Igo, J. L., VanOverbeke, D. L., Mafi, G. G., Lawrence, T. E., Jr., R. J. D., Christensen, L. M., Shackelford, 1S. D., King, D. A., Wheeler, T. L., … *Department. (2012). National beef quality audit–2011: In-plant survey of targeted carcass characteristics related to quality, quantity, value and marketing of fed steers and heifers. **Journal of Animal Science,** 90(7), 5143–5151. https://doi.org/10.2527/jas2012-5550

Moriel, P., & Arthington, J. D. (2013a). Effects of molasses-based creep-feeding supplementation on growth performance of pre- and post-weaned beef calves. **Livestock Science**, 151(2–3), 171–178. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.11.008

Moriel, P., & Arthington, J. D. (2013b). Effects of trace mineral-fortifi ed, limit-fed preweaning supplements on performance of pre- and postweaned beef calves. **Journal of Animal Science**, 91, 1371–1380.

Moriel, P., Johnson, S. E., Vendramini, J. M. B., Mccann, M. A., Gerrard, D. E., Mercadante, V. R. G., Hersom, M. J., & Arthington, J. D. (2014). Effects of calf weaning age and subsequent management systems on growth performance and carcass characteristics of beef steers. **Journal of Animal Science**, 92, 3598–3609. https://doi.org/10.2527/jas2014-7751

Park, S. J., Beak, S. H., Jung, D. J. S., Kim, S. Y., Jeong, I. H., Piao, M. Y., Kang, H. J., Fassah, D. M., Na, S. W., Yoo, S. P., & Baik, M. (2018). Genetic, management, and nutritional factors affecting intramuscular fat deposition in beef cattle - A review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 31(7), 1043–1061. https://doi.org/10.5713/ajas.18.0310

Park, S. J., Kang, H. J., Na, S., Lee, S. H., & Baik, M. (2018). Differential expression of extracellular matrix and integrin genes in the longissimus thoracis between bulls and steers and their association with intramuscular fat contents. **Meat Science**, 136(June 2017), 35–43. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.10.008

Pereira, M. C. S., Dellaqua, J. V. T., Sousa, O. A., Santi, P. F., Felizari, L. D., Reis, B. Q., Pinto, A. C. J., Bertoldi, G. P., Silvestre, A. M., Watanabe, D. H. M., Estevam, D. D., Arrigoni, M. D. B., & Millen, D. D. (2020). Feedlot performance, feeding

behavior, carcass and rumen morphometrics characteristics of Nellore cattle submitted to strategic diets prior the adaptation period. **Livestock Science**, 234. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.103985

Ramírez-Zamudio, G. D., Ganga, M. J. G., Pereira, G. L., Nociti, R. P., Chiaratti, M. R., Cooke, R. F., Chardulo, L. A. L., Baldassini, W. A., Machado-Neto, O. R., & Curi, R. A. (2023). Effect of Cow-Calf Supplementation on Gene Expression, Processes, and Pathways Related to Adipogenesis and Lipogenesis in Longissimus thoracis Muscle of F1 Angus × Nellore Cattle at Weaning. **Metabolites**, 13(2), 160. https://doi.org/10.3390/metabo13020160

Santiago, B. M., Baldassini, W. A., Chiaratti, M. R., Pandey, A. K., Torrecilhas, J. A., Torres, R. N. S., Ribeiro, R. V., Lanna, D. P. D., Pereira, G. L., Curi, R. A., Chardulo, L. A. L., & Machado Neto, O. R. (2023). Skeletal muscle gene expression and meat quality of F1 Angus–Nellore young steers and bulls feedlot finished. **Livestock Science,** 268, 105151. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2022.105151

Scheffler, J. M., Mccann, M. A., Greiner, S. P., Jiang, H., Hanigan, M. D., Bridges, G. A., Lake, S. L., & Gerrard, D. E. (2014). Early metabolic imprinting events increase marbling scores in fed cattle. **Journal of Animal Science,** 92(1), 320–324. https://doi.org/10.2527/jas.2012-6209

Silva, L. H. P., Paulino, P. V. R., Assis, G. J. F., Assis, D. E. F., Estrada, M. M., Silva, M. C., Silva, J. C., Martins, T. S., Valadares Filho, S. C., Paulino, M. F., & Chizzotti, M. L. (2017). Effect of post-weaning growth rate on carcass traits and meat quality of Nellore cattle. **Meat Science**, 123, 192–197. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2016.10.005

Silva, L. H. P., Paulino, P. V. R., Benedeti, P. D. B., Estrada, M. M., Alves, L. C., Assis, D. E. F., Assis, G. J. F., Leonel, F. P., Filho, S. C. V., Paulino, M. F., & Chizzotti, M. L. (2020). Post-weaning growth rate effects on body composition of Nellore bulls**. Animal Production Science**, 60(6), 852–862. https://doi.org/10.1071/AN19032

Simioni, T. A., Torrecilhas, J. A., Messana, J. D., Granja-Salcedo, Y. T., Vito, E. S., Lima, A. R. C., Sanchez, J. M. D., Reis, R. A., & Berchielli, T. T. (2021). Influence of growing-phase supplementation strategies on intake and performance of different beef cattle genotypes in finishing phase on pasture or feedlot. **Livestock Science**, 251, 104653. https://doi.org/10.1016/J.LIVSCI.2021.104653

Smith, S. B., Clare, A. G., Lunt, D. K., & Brooks, M. A. (2009). Regulation of Fat and Fatty Acid Composition in Beef Cattle. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 22(9), 1225–1233.

Smith, S. B., & Crouse, J. D. (1984). Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue.

The Journal of Nutrition, 114(4), 792–800. https://academic.oup.com/jn/article-abstract/114/4/792/4755721

Wang, B., Yang, Q., Harris, C. L., Nelson, M. L., & Busboom, J. R. (2016). of retinoic acid : A review. **Nutrigenomic,** 509, 100–106. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.003.

Waterland, R. A., & Garza, C. (1999). Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 69(2), 179–197. https://doi.org/10.1093/AJCN/69.2.179

Waterman, R. C., Geary, T. W., Paterson, J. A., Lipsey, R. J., Shafer, W. R., Berger, L. L., Faulkner, D. B., & Homm, J. W. (2012). Early weaning in Northern Great Plains beef cattle production systems: III. Steer weaning, finishing and carcass characteristics. **Livestock Science,** 148(3), 282–290. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.06.024

Wood, J. D., Enser, M., Fisher, A. V., Nute, G. R., Sheard, P. R., Richardson, R. I., Hughes, S. I., & Whittington, F. M. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. In **Meat Science** (Vol. 78, Issue 4, pp. 343–358). https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.019

11.1 CAPÍTULO 3 - MACIEZ E PROTEÔMICA DO MUSCULO DE NOVILHOS F1 ANGUS-NELORE SUPLEMENTADOS EM CREEP FEEDING E CONFINADOS APÓS O DESMAME

RESUMO – Nosso objetivo foi avaliar o efeito da suplementação em creep feeding sob as características físicas, índice de marmoreio e perfil proteômica do musculo *Longissimus thoracis* de novilhos F1 Angus-Nelore confinados após o desmame. Quarenta e cinco bezerros F1 Angus-Nelore, meio irmãos foram suplementados ou não em creep feeding por 172 dias, desmamados e confinados com uma mesma dieta por 200 dias. Diferenças foram consideradas significativas se P<0.05. A força de cisalhamento, pH, variáveis da cor *a**, *b**, *C** e *h** não diferiram entre os grupos experimentais. A carne maturada aos 14 dias foi em média 0,93 kgf menos força de cisalhamento comparada a maturação de 7 dias (4,3 vs. 3,4 kgf; P<0,0001). O valor de L* foi maior no grupo creep feeding devido a maior presença de gordura (37,8 vs. 36,5; P<0,0036). Nos dois tratamentos, 2 grupos principais bem definidos foram identificados: proteínas relacionadas ao metabolismo energético e a contração muscular. Enzimas importantes relacionadas a maciez, como actina alfa 1, músculo esquelético (*ACTA1*), Miosina de cadeia leve 1 (*MYL1*), Beta enolase (*ENO3*) e Creatina kinase tipo M (*CKM*) diferencialmente expressas em ambos os grupos. Algumas outras foram diferencialmente abundantes no grupo creep feeding Alfa enolase (*ENO1*), Troponina T rápida do músculo esquelético (*TNNT3*), Fosfoglicomutase 1 (*PGM1*) ou no creep feeding Malato desidrogenase 1 (*MDH1*), Miosina de cadeia leve 3 (*MYL3*), Troponina T lenta do músculo esquelético (*TNNT1*). A suplementação em creep feeding afeta proteínas musculares relacionadas principalmente a atividade glicolítica e a estrutura muscular, mas essas alterações não são suficientes para impactar a maciez da carne. O uso desta estratégia associado a terminação em confinamento por um período de 200 dias contribuiu para melhorar o índice de marmoreio da carne.

Palavras-chave: Creep feeding, proteômica, qualidade de carne, *Longissimus thoracis*, maciez da carne

CHAPTER 3 - TENDERNESS AND MUSCLE PROTEOMICS OF F1 ANGUS-NELORE STEERS SUPPLEMENTED IN CREEP FEEDING AND FEEDLOT FINISHED CONFINED AFTER WEANING

ABSTRACT – Our objective was to evaluate the effect of supplementation in creep feeding on the physical characteristics, marbling index and proteomic profile of the Longissimus thoracis muscle of F1 Angus-Nelore steers in feedlot finished after weaning. Forty-five F1 Angus-Nelore calves, half siblings, were supplemented or not in creep feeding for 172 days, weaned and confined on the same diet for 200 days. Differences were considered significant if P<0.05. The shear force, pH, color variables a*, b*, C* and h* did not differ between the experimental groups. Meat aged at 14 days had an average of 0.93 kgf less shear force compared to that aged for 7 days (4.3 vs. 3.4 kgf; P<0.0001). The L* value was higher in the creep feeding group due to the greater presence of fat (37.8 vs. 36.5; P<0.0036). In both treatments, 2 main well-defined groups were identified: proteins related to energy metabolism and muscle contraction. Important enzymes related to softness, such as actin alpha 1, skeletal muscle (ACTA1), Myosin light chain 1 (MYL1), Beta enolase (ENO3) and Creatine kinase type M (CKM) differentially expressed in both groups. Some others were differentially abundant in the creep feeding group Alpha enolase (ENO1), Fast skeletal muscle Troponin T (TNNT3), Phosphoglycomutase 1 (PGM1) or in the creep feeding Malate dehydrogenase 1 (MDH1), Myosin light chain 3 (MYL3), Skeletal muscle slow troponin T (TNNT1). Creep feeding supplementation affects muscle proteins mainly related to glycolytic activity and muscle structure, but these changes are not enough to impact meat tenderness. The use of this strategy associated with finishing in confinement for a period of 200 days contributed to improving the meat marbling index.

Key words: creep feeding, proteomics, meat quality, *Longissimus thoracis*, meat tenderness

12.1 Introdução

Ao longo dos anos o mercado consumidor vem se tornando cada vez mais exigente e preocupado com a segurança e qualidade da carne consumida. Nesse sentido a combinação de estratégias nutricionais e a utilização de animais cruzados tem sido necessários para o avanço dos estudos que buscam agregar valor ao produto, e atender a demanda de uma população disposta a consumir carne com melhores características, como a maciez e gordura de marmoreio. Uma das estratégias utilizadas para melhorar o desempenho produtivo e as características de qualidade da carne é o creep feeding. Essa técnica consiste em fornecer nutrientes exclusivamente aos bezerros até a desmama, sem a necessidade de separá-los de suas mães (Bray, 1934; Moriel et al., 2017).

As características de qualidade da carne são afetadas por mudanças fisiológicas, bioquímicas e metabólicas que ocorrem durante a conversão do músculo em carne. Essas mudanças incluem principalmente a diminuição no pH, degradação de proteínas miofibrilares, oxidação de proteínas e modificação pós-traducional de proteínas (Warner, 2016; Ouali et al., 2006). Neste contexto, estudos de proteômica que estudam fenótipos de interesse para qualidade de carne são conduzidos para identificar os biomarcadores que regulam os processos moleculares e compreender os mecanismos associados a característica (Ouali et al., 2013; Picard et al., 2019).

Estudos proteômicos permite avaliar as interações entre as proteínas e sua influência na qualidade final da carne, e tornam-se contribuições fundamentais para a busca de biomarcadores das características de interesse econômico na carne (Picard et al., 2015; Huang et al., 2020a). No entanto, ainda não há estudos com abordagem proteômica que investigaram os mecanismos moleculares que regulam a maciez da carne e deposição de gordura intramuscular em bovinos submetidos a suplementação em creep feeding.

Nossa hipótese é que a suplementação em creep feeding até os 210 dias de idade pode melhorar as características de maciez da carne e gordura intramuscular de novilhos terminados em confinamento após o desmame, e que essas diferenças podem ser elucidadas por meio do proteoma do Longissimus thoracis. Diante disso, objetivou-se investigar o efeito da suplementação em creep feeding sob as

características físicas, marmoreio da carne e proteoma muscular de novilhos F1 Angus-Nelore confinados após o desmame.

13.1 Material e Métodos

Todos os procedimentos seguiram os padrões de pesquisa, estabelecidos pela Comissão de Ética no uso de animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FCAV) – Unesp (protocolo n° 013689/19). O experimento foi dividido em duas fases. A fase de cria foi realizada na Fazenda “Nascente do Pinga” – Piracicaba-SP, de agosto de 2019 a janeiro de 2020 (172 dias). Os animais foram confinados na Fazenda Lageado, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, em Botucatu-SP de janeiro a agosto de 2020 (200 dias).

Animais e delineamento experimental

Quarenta e cinco bezerros machos, F1 Angus-Nelore (38 ± 15 dias de idade, 59 ± 5,83 kg de peso corporal) filhos do mesmo touro (KCF Bennett Fortress R:17259012) e suas mães (414 ± 45 kg) foram estratificados de acordo com a data e número de partos (primípara ou multípara) e distribuídos em 2 piquetes de capim Brachiaria (20 hectares). Os tratamentos consistiram em bezerros que receberam suplementação em creep feeding (creep feeding, n=21), ou não receberam a suplementação (controle, n=24).

No sistema de creep feeding, os bezerros tiveram acesso ad libitum ao suplemento durante toda a fase de aleitamento. O suplemento oferecido aos animais continha milho moído (44.8%), farelo de soja (40.4%) e núcleo mineral núcleo (14.8%) (22% de proteína bruta e 65% de nutrientes digestíveis totais com base na matéria seca). Aos 210 dias de idade os animais foram desmamados, pesados, submetidos a um protocolo sanitário e transportados por 80 km ao confinamento experimental.

Na terminação os animais foram distribuídos em baias (n = 16) com 2 ou 3 animais de acordo com seu respectivo tratamento. O peso dos animais foi utilizado como fator de blocagem para a distribuição nas baias, e o delineamento utilizado foi em blocos casualizados. A castração foi feita ao longo do confinamento com três aplicações de uma vacina de GnRH (Bopriva, Zoetis®) administradas por via subcutânea no 5º, 29º e 140º dia de confinamento.

A dieta de terminação continha 15,24% de proteína bruta, 1,28Mcal de energia liquida para ganho e 48,69% de amido a base de 88% de concentrado (milho a 75,4%, farelo de soja a 19,9%, ureia a 0,43% e núcleo mineral a 14,25%), bagaço de cana (9%) e feno (3%). Ao final do período experimental, os animais foram pesados sem jejum por dois dias consecutivos para estimativa do peso corporal final (PCF). O PCF foi determinado pela média das duas pesagens x 0,96 de acordo com o NRC (2000).

Abate, coleta de amostras e características de carcaça

O abate foi realizado em um abatedouro comercial (Cowpig, Boituva, São Paulo, Brasil) após transporte por 120 km e jejum alimentar de 24 h com acesso a água. Os novilhos foram abatidos pela técnica de concussão cerebral e secção da veia jugular. Posteriormente, as carcaças foram divididas longitudinalmente e amostras foram retiradas do músculo Longissimus thoracis (LT) da meia carcaça direita na altura da 12ª vertebra torácica e armazenada em N líquido seguido de ultra freezer a -80°C. As carcaças foram pesadas para obtenção do peso de carcaça quente (PCQ). O rendimento de carcaça (RC) foi obtido de acordo com a seguinte equação:

RC = (PCQ/PCF) x 100

Após 48 h de resfriamento a 2°C e antes da desossa as meias carcaças foram seccionadas entre a 12ª e 13ª costelas para mensurar a área de olho de lombo (AOL) e a espessura de gordura subcutânea (EGS) do músculo LT. A AOL foi registrada em filme transparente, digitalizadas e analisadas com auxílio do software ImageJ (National Institutes of Health, Maryland, USA). A EGS foi determinada com paquímetro digital e apresentadas em milímetros (mm). O índice de marmorização (IM) foi avaliado por análise do escore visual, seguindo metodologia descrita pelo Sistema Australiano de Avaliação de Carcaças (Australian Meat Standards,1997).

Após a desossa uma porção do LT com aproximadamente 12 cm de comprimento, a partir do ponto de secção citado anteriormente e no sentido cranial, foi retirada, identificada, embalada individualmente a vácuo e transportada ao laboratório. As amostras então foram seccionadas em bifes com 2,54 cm de espessura para as análises físicas.

Maturação e analises físicas da carne

Os bifes foram acondicionados a vácuo em embalagens de polietileno e maturados em geladeira a 2 ° C por 7 ou 14 dias. Após atingir o período de maturação as amostras eram retiradas da geladeira e expostas ao oxigênio por 30 min a 4 ° C para estabilização dos pigmentos de cor.

Primeiro, o pH da carne foi medido usando um peagâmetro digital Hanna (Modelo HI 99163, Hanna Instruments, Woonsocket, RI, EUA) com sonda de penetração. O peagâmetro era calibrado usando tampões padrão de pH 4,0 e 7,0. Em seguida, a cor da carne (L * = luminosidade, a * = intensidade vermelha, b * = intensidade amarela) foi medida usando o sistema CIELab do colorímetro CR-400 (fonte de luz A, ângulo de absorção 10, Y, 0,01 em 160,00% de refletância, Konica Minolta Sensing, Tóquio, Japão). O colorímetro foi calibrado com placa padrão em preto e branco e três leituras de cores foram tomadas na superfície da amostra. A média das leituras foi calculada para cada variável (L *, a * e b *). Com base nos resultados mensurados, calculou-se os índices colorimétricos de croma (quantidade de cor ou saturação) e matiz (cor real), conforme Cañeque et al. (2004) e Baldassini et al. (2017).

Com base nos resultados mensurados, calculou-se os índices colorimétricos de croma (quantidade de cor ou saturação) e matiz (cor real), seguindo equações descritas por Cañeque et al. (2004).

Croma* = ((a*)2 + (b*)2)0,5

Matiz = tan-1(b*/a*)

Para determinar as perdas por cocção e a força de cisalhamento, as amostras foram colocadas sob uma grade metálica e um refratário de vidro de peso conhecido e pesadas. Os bifes foram grelhados em forno pré-aquecido equipado com termostato para evitar variações de temperatura. Um termômetro digital modelo DT-612 (ATP Instrumentation, Ashby-de-la-Zouch, UK) foi utilizado para monitorar a temperatura interna das amostras até atingir a temperatura interna de 71 ° C, conforme metodologia descrita por Wheeler et al. (1996). Em seguida, as amostras foram mantidas em temperatura ambiente por 15 minutos, pesadas e refrigeradas a 4 ° C por 24 horas. As perdas por cozimento foram obtidas pela diferença de peso pré e pós cozimento.

Após o resfriamento, oito cilindros com 1,27 cm de diâmetro foram retirados da direção paralela da fibra muscular por meio de uma punção oco acoplado a uma

broca industrial. Os cilindros foram seccionados em equipamento Brookfield CT-3 Texture Analyzer (AMETEK Brookfield, Middleborough, MA, USA). Os resultados foram apresentados em quilograma-força (kgf) e a média das oito medições de cada bife foi utilizada.

Proteômica

Para as análises de proteômica, utilizou-se amostras de 20 animais (10 controles e 10 creep feeding). Aproximadamente 200 mg do tecido muscular foi macerado em 1000 µL de água deionizada e, posteriormente, centrifugadas a 10.000 rpm e 4°C por 15 minutos. Após centrifugação, em triplicata (tubos separados), 300 µL do sobrenadante foi submetido à precipitação utilizando 600 µL de acetona 80% (proporção 1:2). Nesta etapa as amostras permaneceram sobre refrigeração por 2 horas e, em seguida, foram submetidas a centrifugação a 14000 rpm e 4º C por 30 minutos, formando três pellets por amostra. Subsequentemente, a acetona foi descartada e os pellets foram novamente centrifugados utilizando etanol (1000 rpm, 4º C por 5 minutos). Utilizando um dos pellets formados na etapa anterior, quantificou-se o teor de proteína total pelo método do Biureto (Gornall et al., 1949). Um segundo pellet foi reconstituído em tampão específico contendo 0,07 M de ureia, 0,02 M de tioureia, 2% de [(3-Colamidopropil) dimetilamônio] -1-propano sulfato (CHAPS) (m / v), 10% de 56 anfólito (faixa de pH 3-10) e 0.002% de azul de bromofenol. Além disso, foram adicionados 2,8 mg de 1,4-ditiotreitol e essa solução foi utilizada nas separações eletroforéticas. Terceiro pellet foi armazenado como reserva a -20°C.

Eletroforese bidimensional – 2D-PAGE

A partir da solubilização, uma alíquota contendo 400 µg de proteína foi aplicada a cada fita de eletroforese (pH 3-10, 13cm), hidratada por 12 h, submetida a focalização isoelétrica em aparelho Ettan IPGphor 3 (GE Healthcare), alquilada e reduzida em soluções de equilíbrio (Baldassini et al., 2015). Em seguida, as fitas foram aplicadas em gel de poliacrilamida 12,5% (m/v) e submetidas à separação dos spots proteicos de acordo com o peso molecular de 10–250 kDa, os géis foram feitos um por animal. Ao término, utilizou-se Coomassie coloidal como marcador dos spots proteicos. Após 72 h, os géis foram descoloridos com água ultrapura e digitalizados.

Análises de imagens

Os géis foram digitalizados, e as imagens analisadas no software ImageMaster Platinum v. 7.0 (Healthcare Bio-Sciences) conforme descrito por Baldassini et al. (2015) e Braga et al. (2017). Os spots proteicos equivalentes (correspondentes) foram identificados dentro dos tratamentos e entre tratamentos, e a edição automática e manual foi realizada para remover os spots falsos. Além disso, foram obtidas variáveis como o número de spots por gel e o seu volume normalizado. A correspondência dos géis dentro de cada amostra, foi superior a 95% de compatibilidade.

Digestão de proteínas

Inicialmente, os spots proteicos diferencialmente abundantes foram cortados do gel, colocado em microtubos individuais de 1,5 mL para digestão utilizando tripsina conforme descrito anteriormente (Braga et al., 2017). Os spots proteicos foram lavados para remoção de corante e preparados para digestão tríptica (Kit de digestão rápida - Tripsina, Promega Corporation), seguida de eluição de peptídeo.

Identificação das proteínas

Os peptídeos e proteínas dos spots diferencialmente abundantes foram caracterizados por meio de espectrometria de massas ESI-MS/MS (nanoAcquity UPLCR – nanoAcquity HSS T3, Waters Solutions). O equilíbrio da coluna, gradiente de separação de peptídeos e modo de operação foram conduzidos conforme procedimentos descritos na literatura (Braga et al., 2017). A identificação das proteínas foi realizada por meio do banco de dados UniProt (UniProtKB / Swiss-Prot - www.uniprot.org), e a busca pela espécie Bos taurus taurus.

Bioinformática

Análises bioinformáticas foram realizadas para a classificar as proteínas diferencialmente abundantes no Longissimus thoracis em termos de processos biológicos (PB), função molecular (FM) e componentes celulares (CC). Para isso, o número de acesso das proteínas identificadas por ESI/MS/MS foi inserido no banco de dados UniProt (www.uniprot.org) e suas sequências FASTA foram extraídas. Após essa etapa, as proteínas foram analisadas por meio do OMICSBOX v.2.0

(https://www.biobam.com/omicsbox/) e das ferramentas Blast2GO (Götz et al., 2008).

Em seguida, a ferramenta de código aberto Metascape® (https://metascape.org/gp/index.html#/main/step1) foi usada para identificar os principais termos de ontologia genética enriquecida (GO) entre as listas de proteínas seguindo os procedimentos descritos (Gagaoua et al., 2021). Como a taxonomia de Bos taurus não está disponível no Metascape®, os ortólogos do Homo sapiens foram recuperados usando o HCOP (http://www.genenames.org/tools/hcop/). O agrupamento de mapa de calor hierárquico comparando os termos GO significativamente enriquecidos foi realizado. A sobreposição dos dois proteomas também foi investigada com um gráfico circos, ilustrando o grau de sobreposição entre listas de proteínas do grupo controle e do creep feeding.

Uma análise bioinformática adicional entre as proteínas identificadas foi realizada usando o banco de dados STRING (Search Tool for Retrieval of Interacting Genes, v. 11.0 – https://string-db.org/). Uma rede de interação proteína-proteína relacionando as proteínas diferencialmente abundantes de acordo com as vias a que pertencem foi gerada.

Análises estatísticas

Os dados foram analisados em delineamento em blocos casualizados usando o PROC MIXED do SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC). O tratamento foi incluído como efeito fixo e o animal a unidade experimental. Gráficos de resíduos e a estatística W (Shapiro e Wilk, 1965) foram avaliados para determinar a normalidade para todos os dados, e outliers (+ 3 ou −3 desvios padrão) foram excluídos. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para testar os efeitos do creep feeding para as variáveis de desempenho e características de carcaça. Para as variáveis físicas da carne o efeito do tempo de maturação foi considerado, e os dados analisados como medida repetida no tempo. Diferenças foram consideradas significativas quando $P \leq 0,05$.

Os dados de representação de proteínas foram analisados utilizando ImageMaster Platinum v. 7.0 (GE Healthcare, Chicago, Illinois, Estados Unidos). Os dados do volume spot foram testados quanto à homogeneidade das variâncias e normalidade usando os testes de Levene e Shapiro-Wilk, respectivamente.

Posteriormente, as diferenças nas médias entre os tratamentos foram analisadas através do teste t de Student. Além disso, o teste de Mann-Whitney (teste de soma de postos de Wilcoxon) foi utilizado quando os critérios de normalidade foram violados em algum dos tratamentos. Para ambos os testes (Student ou Mann-Whitney), foi detectada significância ao nível de 0,05.

14.1 Resultados

Desempenho, características de carcaça e qualidade da carne

A suplementação durante a fase de aleitamento influenciou o desempenho e as características de carcaça dos animais (P<0,05) (Tabela 9). Como esperado, os novilhos do grupo creep feeding apresentaram maior peso corporal a desmama, peso corporal final, gordura de carcaça, medida como espessura de gordura subcutânea e índice de marmoreio. Por outro lado, peso corporal inicial, ganho médio diário, peso de carcaça quente, rendimento de carcaça e área de olho e lombo não diferiram.

Tabela 9: Características de carcaça de novilhos F1 Angus-Nelore suplementados ou não em creep feeding e confinados após o desmame.

Variável	Controle	Creep	EPM	*P-valor*
Peso corporal inicial	59,35	57,76	1,4260	0,4274
Peso corporal a desmama	227,26	242,91	3,6440	0,0002
Peso corporal final	484,64	499,92	4,4197	0,0399
Peso de carcaça quente (kg)	269,22	275,11	2,4999	0,1113
Rendimento de carcaça quente (%)	55,55	55,01	0,1820	0,1106
Area de olho de lombo (cm²)	68,46	65,54	0,8118	0,0760
Espessura de gordura subcutânea (mm)	10,61	12,55	0,4486	0,0076
Índice de marmorização, de 100 a 1100	322,75	366,11	9,6086	0,0194

Uma interação tratamento × maturação foi observado nas perdas por cocção (P=0,0095) (Tabela 10). Os bifes do grupo controle maturados por 7 dias exibiram maiores perdas por cocção (P<0,0382). Os bifes do grupo controle de 7 dias e creep feeding de 14 dias não diferiram entre si (P>0,05). Os bifes do grupo creep feeding maturados por 14 dias foram iguais a todos os demais (P>0,05).

Os tratamentos não influenciaram as variáveis força de cisalhamento e pH (P<0,05). Porém houve efeito de maturação, onde aos 14 dias de maturação os

bifes apresentaram menores valores de pH e força de cisalhamento (*P*<0,0001). Os valores médios de pH reduziram de 5,50 para 5,1 e a FC reduziu em média 21,24% (0,926kgf).

Aos 14 dias de maturação os bifes apresentaram menores valores de pH e força de cisalhamento (*P*<0,0001), mas não foram influenciados pelo creep feeding (*P*>0,05). Os valores médios de pH reduziram de 5,50 para 5,31 e a FC reduziu em média 21,24% (0,926kgf). Esses resultados indicam que o uso de creep feeding não afeta a maciez da carne.

Tabela 10: Perda por cocção, características de cor, pH e força de cisalhamento do músculo *Longissimus thoracis* em dois tempos de maturação (3 e 14 dias pós mortem) de novilhos F1 Angus-Nelore suplementados ou não em creep feeding e confinados após o desmame.

Item	7 dias		14 dias		EPM	*P-valor*		
	Controle	Creep	Controle	Creep		Tr	Dia	Dia×Tr
PPC	25,48$_{a}$	23,11$_{b}$	23,64$_{b}$	23,83$_{ab}$	0,2586	0,0247	0,2467	0,0095
pH	5,51	5,50	5,32	5,30	0,0155	0,5506	<0,0001	0,9206
FC kgf	4,52	4,21	3,45	3,42	0,0736	0,1179	<0,0001	0,1892
L*	36,32	37,09	36,62	38,45	0,2288	0,0036	0,0597	0,2253
a*	16,54	16,11	16,84	16,76	0,1072	0,2350	0,0255	0,3968
b*	6,42	6,46	6,58	6,59	0,0578	0,8055	0,2212	0,8798
Croma	17,74	17,42	18,06	17,91	0,1123	0,2994	0,0691	0,6978
Matiz	21,21	21,40	21,07	21,65	0,1080	0,0820	0,8108	0,3663

PPC: Perdas por cocção, FC: Força de cisalhamento, L*: Luminosidade, a*: Vermelhidão, b*: Amarelidão

Os valores de L* foram maiores nos bifes dos animais que receberam, creep feeding (*P*=0,0041), porém não houve efeito para os outros índices de cor (a*, b*, Croma e Matiz; *P*>0,05). Em relação ao tempo de maturação, 14 dias reduziu o índice a* (*P*=0,0255), sem efeito nas outras variáveis.

Proteômica

Com base no estudo de imagem, o número médio de “spots” proteicos por tratamento foi de 200 ± 34 para controle e 214 ± 20 para creep feeding. O número de “spots” dos géis referência foi de 228 no controle (Figura 2) e 222 no creep feeding (Figura 3). Após a seleção de imagem, em 29 “spots” foram detectados 151 proteínas diferencialmente abundantes (*P*>0,05).

Os spots de proteínas foram caracterizados como os mais abundantes nos tratamentos controle (Tabela 11) e creep feeding (Tabela 12). No grupo controle, as 54 proteínas foram diferencialmente abundantes 81 vezes, enquanto que no grupo creep feeding, 45 proteínas foram diferencialmente abundantes 70 vezes. As proteínas identificadas desempenham funções relacionadas principalmente a metabolismo energético, contração/regulação muscular, atividade de ATP, citoproteção, defesa celular e ligação.

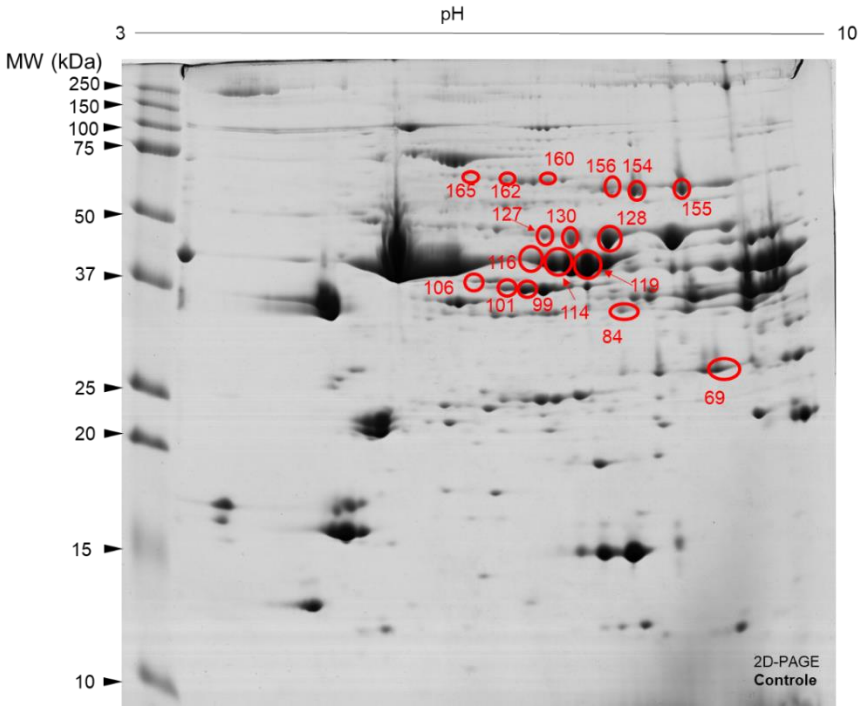

Figura 2: Spots de proteínas selecionados para caracterização por espectrometria de massa (ESI-MS) após análise das imagens. Eletroforese em gel de poliacrilamida bidimensional (2D-PAGE): 12,5% (m/v) e gradiente de pH 3-10. Amostras do musculo *Longissimus thoracis* de bovinos F1 Angus-Nelore não suplementados em creep feeding e confinados após o desmame.

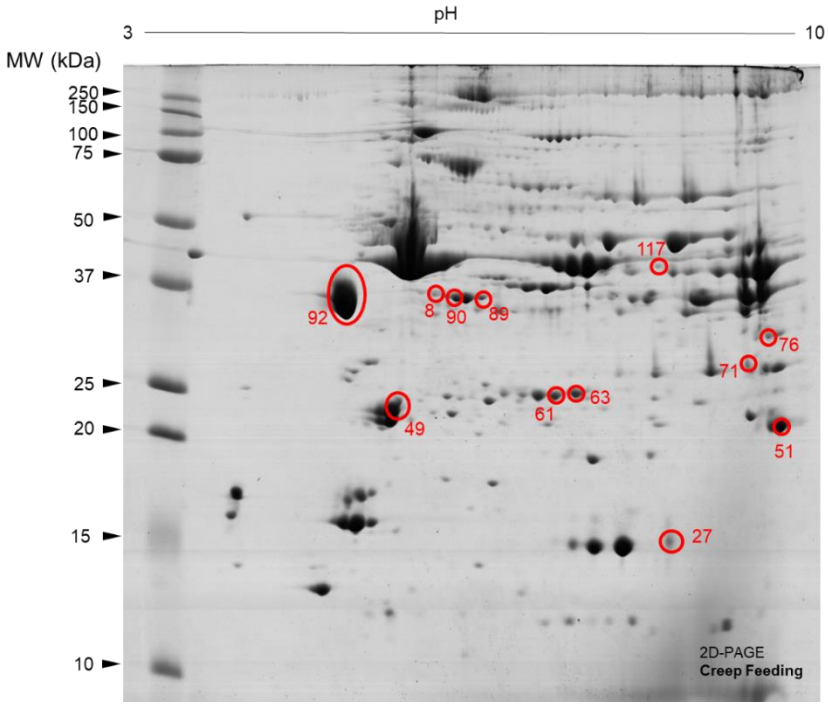

Figura 3: Spots de proteínas selecionados para caracterização por espectrometria de massa (ESI-MS) após análise das imagens. Eletroforese em gel de poliacrilamida bidimensional (2D-PAGE): 12,5% (m/v) e gradiente de pH 3-10. Amostras do musculo *Longissimus thoracis* de bovinos F1 Angus-Nelore suplementados em creep feeding confinados após o desmame.

Tabela 11: Proteínas diferencialmente expressas do músculo *Longissimus thoracis* de bovinos F1 Angus-Nelore não suplementados em creep feeding e confinados após o desmame.

Spot ID	Nome da Proteína	Uniprot ID	Gene Symbol	Score	Coverage (%)	pI/Mw teórico	pI/Mw experimental
Metabolismo energético							
69	Phosphoglycerate mutase 2	Q32KV0	PGAM2	199,2052	22,13	9,2446/ 28666	8,9911/27
	Creatine Kinase M-type	Q9XSC6	CKM	2546,284	37,64	6,6782/42961	8,9911/27
84	L-lactate dehydrogenase A chain	P19858	LDHA	3878,889	51,51	8,0039/ 36574	7,96975/33
106	Glycogen phosphorylase_ muscle form	P79334	PYGM	172,7643	20,78	6,6709/ 97231	6,31940/36
114	G3P dehydrogenase [NAD(+)] cytoplas.	Q5EA88	GPD1	397,8026	52,15	6,438/37623	7,19128/39
	Creatine Kinase M-type	Q9XSC6	CKM	20518,52	94,75	6,6782/42961	7,19128/39
116	Creatine Kinase M-type	Q9XSC6	CKM	17164,19	96,06	6,6782/42961	7,04804/39
119	Creatine Kinase M-type	Q9XSC6	CKM	27009,96	96,85	6,6782/42961	7,37811/38
127	Beta-enolase	Q3ZC09	ENO3	22395,5	80,18	7,667/47066	7,09164/45
	Glyceraldehyde-3p dehydrogenase	P10096	GAPDH	3584,665	69,07	8,5151/35845	7,09164/45
128	Beta-enolase	Q3ZC09	ENO3	24099,27	95,62	7,667/47066	7,80783/43
	Alpha-enolase	Q9XSJ4	ENO1	1704,978	45,85	6,3823/47296	7,80783/43
130	Beta-enolase	Q3ZC09	ENO3	19826,61	74,19	7,667/47066	7,39680/44
	Creatine Kinase M-type	Q9XSC6	CKM	812,8054	39,63	6,6782/42961	7,39680/44
154	Beta-enolase	Q3ZC09	ENO3	1757,128	39,86	7,667/47066	8,10676/57
	Glucose-6-phosphate isomerase	Q3ZBD7	GPI	1067,311	51,89	7,5044/62815	8,10676/57
155	Glucose-6-phosphate isomerase	Q3ZBD7	GPI	555,5845	43,27	7,5044/62815	8,64858/58
156	Triosephosphate isomerase	Q5E956	TPI1	2292,515	72,29	6,5112/26672	7,76424/58
	Glucose-6-phosphate isomerase	Q3ZBD7	GPI	1340,102	58,53	7,5044/62815	7,76424/58
160	Phosphoglucomutase-1	Q08DP0	PGM1	2040,83	58,72	6,3647/61550	7,12278/61

162	Phosphoglucomutase-1	Q08DP0	PGM1	6136,735	77,94	6,3647/61550	6,66192/62
165	Phosphoglucomutase-1	Q08DP0	PGM1	814,9357	61,57	6,3647/ 61550	6,25805/63
	Beta-enolase	Q3ZC09	ENO3	339,5077	20,05	7,667/ 47066	6,25805/63
Estrutura muscular							
99	Troponin T_fast skeletal muscle	Q8MKI3	TNNT3	1972,843	44,28	5,9282/32106	6,86744/35
101	Troponin T_fast skeletal muscle	Q8MKI3	TNNT3	1548,239	37,64	5,9282/32106	6,64947/35
	Troponin T_fast skeletal muscle	Q8MKI3	TNNT3	2870,764	39,48	5,9282/32106	6,31940/36
	Tropomyosin beta chain	Q5KR48	TPM2	697,684	58,10	4,4575/32816	6,31940/36
106	Tropomyosin alpha-1 chain	Q5KR49	TPM1	249,897	40,85	4,4897/32674	6,31940/36
	Myosin light chain 1/3_ skeletal muscle isoform	A0JNJ5	MYL1	190,5043	47,92	4,7695/20918	6,31940/36
114	Actin_ alpha skeletal muscle	P68138	ACTA1	3289,37	61,01	5,0713/42023	7,19128/39
	Tropomyosin beta chain	Q5KR48	TPM2	285,2681	50,00	4,4575/32816	7,19128/39
116	Actin_ alpha skeletal muscle	P68138	ACTA1	6074,357	86,21	5,0713/42023	7,04804/39
119	Actin_ alpha skeletal muscle	P68138	ACTA1	3688,712	74,54	5,0713/42023	7,37811/38
	Troponin T_fast skeletal muscle	Q8MKI3	TNNT3	244,3849	25,83	5,9282/32106	7,09164/45
127	Actin_ gamma-enteric smooth muscle	Q5E9B5	ACTG2	151,9632	26,86	5,1606/41849	7,09164/45
	Myosin regulatory light chain 2_ skeletal muscle isoform	Q0P571	MYLPF	124,1256	55,29	4,6802/42961	7,09164/45
130	Actin_ gamma-enteric smooth muscle	Q5E9B5	ACTG2	435,3572	43,88	5,1606/41849	7,39680/44
154	Actin_ alpha skeletal muscle	P68138	ACTA1	5799,172	61,27	5,0713/42023	8,10676/57
156	Myosin regulatory light chain 2_ skeletal	Q0P571	MYLPF	155,0966	28,24	4,6802/42961	7,76424/58
165	60 kDa heat shock protein_ mitochondrial	P31081	HSPD1	177,646	14,49	5,4375/61069	6,22598/64

Demais Proteínas							
69	Carbonic anhydrase 3	Q3SZX4	CA3	15026,71	81,54	7,7783/29351	8,9911/27
	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 18	Q0VCD4	MED18	171,2505	10,10	6,0615/23666	8,9911/27
	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 4	Q58DA0	PSMD4	108,0018	12,05	4,4854/41358	8,9911/27
99	Hemoglobin subunit alpha	P01966	HBA	733,0789	66,90	9,123/15174	6,86744/35
	Hemoglobin subunit beta	P02070	HBB	271,4226	50,34	7,5498/15944	6,86744/35
	Keratin_ type II cytoskeletal 75	Q08D91	KRT75	245,0664	12,89	7,5835/58999	6,86744/35
101	Phosphotriesterase-related protein	A6QLJ8	PTER	3581,169	65,90	6,0601/39073	6,64947/35
114	Hemoglobin subunit alpha	P01966	HBA	4690,043	53,52	9,123/15174	7,19128/39
	Hemoglobin subunit beta	P02070	HBB	1924,811	70,34	7,5498/15944	7,19128/39
	PDZ and LIM domain protein 3	Q3SYZ8	PDLIM3	1761,014	52,22	7,8604/34331	7,19128/39
119	Photoreceptor disk component	E1B7R9	PRCD	336,3688	79,63	8,9297/5991	7,37811/38
127	NTF2-related export protein 1	Q2KIW0	NXT1	220,5094	25,00	4,8955/15821	7,09164/45
	Platelet-activating factor acetylhydrolase IB subunit alpha2	P68401	PAFAH1B2P 68402	160,2972	22,71	5,5005/25553	7,09164/45
	GRB2-related adapter protein	A6QLK6	GRAP	158,4911	25,81	7,4399/25350	7,09164/45
	Calcium-binding protein 1	Q9N1R0	CABP1	137,7044	23,01	4,5732/25738	7,09164/45
128	ADP-ribosylation factor 4	Q3SZF2	ARF4	433,7592	42,22	5,833/20514	7,80783/43
	N-alpha-acetyltransferase 50	Q0IIJ0	NAA50	267,3329	24,85	9,0498/19386	7,80783/43
156	Elongation factor 1-alpha 1	P68103	EEF1A1	552,5835	24,68	9,3428/50109	7,76424/58
	Cilia- and flagella-associated protein 418	E1BC52	CFAP418	175,7857	18,36	6,1787/23535	7,76424/58

	Fetal and adult testis-expressed transcript protein homolog	Q95LA0	FATE1	168,4321	28,33	5,7129/20347	7,76424/58
	Actin_ cytoplasmic 2	P63258	ACTG1	159,223	28,00	5,1606/41765	7,76424/58
160	Actin_ cytoplasmic 1	P60712	ACTB	307,291	40,80	5,1431/41709	7,12278/61
	Histone H4	P62803		290,4315	29,13	11,7671/11360	7,12278/61
	Ribonuclease P protein subunit p38	Q32LC1	RPP38	188,5	11,35	10,2524/31335	7,12278/61
162	T-complex protein 1 subunit zeta	Q3MHL7	CCT6A	162,2204	35,78	6,3105/57919	6,66192/62
165	Histone H3.1	P68432		8598,989	23,53	11,5415/15394	6,22598/64
	Histone H3.2	P84227		7289,283	23,53	11,6807/15378	6,22598/64
	Elongation factor 1-alpha 1	P68103	EEF1A1	3257,718	35,50	9,3428/50109	6,22598/64
	Actin_ cytoplasmic 1	P60712	ACTB	3060,822	65,87	5,1431/41709	6,22598/64
	Histone H2B type 1-K	Q2M2T1	H2BC12	1668,381	26,98	10,7095/13866	6,22598/64
	T-complex protein 1 subunit alpha	Q32L40	TCP1	748,7789	61,87	5,7129/60168	6,22598/64
	Histone H2A.J	Q3ZBX9	H2AJ	491,0996	21,71	11,3335/14010	6,22598/64
	Albumin	P02769	ALB	410,9528	50,74	5,7583/69248	6,22598/64
	Tubulin alpha-1B chain	P81947		353,9844	51,00	4,7622/50119	6,22598/64
	Tubulin beta-3 chain	Q2T9S0	TUBB3	267,5756	16,89	4,6392/50400	6,22598/64
	Eukaryotic translation initiation factor 5A-1	Q6EWQ7	EIF5A	264,3032	14,94	4,8984/16821	6,22598/64
	Keratin_ type II cytoskeletal 75	Q08D91	KRT75	192,7158	11,79	7,5835/58999	6,22598/64
	Ribonuclease P protein subunit p38	Q32LC1	RPP38	185,123	6,03	10,2524/31335	6,22598/64
	ADP/ATP translocase 2	Q8SQH5	SLC25A5	183,2629	17,45	10,0869/32934	6,22598/64
	Tubulin beta-5 chain	Q2KJD0	TUBB5	181,7518	28,15	4,5908/49638	6,22598/64
	Elongation factor 1-gamma	Q3SZV3	EEF1G	171,3067	20,91	6,126/50346	6,22598/64

Tabela 12: Proteínas diferencialmente abundantes do músculo *Longissimus thoracis* de novilhos F1 Angus-Nelore suplementados em creep feeding e confinados após o desmame.

Spot ID	Nome da Proteína	Uniprot ID	Gene Symbol	Score	Coverage (%)	pI/Mw teórico	pI/Mw experimental
Metabolismo energético							
8	Beta-enolase	Q3ZC09	ENO3	422,2745	28,57	7,667/47066	5,74161/35
	Glyceraldehyde-3p dehydrogenase	P10096	GAPDH	405,5622	13,21	8,5151/35845	5,74161/35
49	Triosephosphate isomerase	Q5E956	TPI1	165,7847	56,22	6,5112/26672	5,24660/22
51	Creatine Kinase M-type	Q9XSC6	CKM	7689,26	77,43	6,6782/42961	9,75249/21
61	Triosephosphate isomerase	Q5E956	TPI1	22967,01	97,99	6,5112/26672	7,14415/24
	Ribose-5-phosphate isomerase	Q3T186	RPIA	318,4771	64,39	7,2847/28734	7,14415/24
63	Triosephosphate isomerase	Q5E956	TPI1	24832,74	95,58	6,5112/26672	7,38531/24
71	Electron transfer flavoprotein subunit β	Q2TBV3	ETFB	2752,729	58,82	8,2529/27682	9,38441/27
	Phosphoglycerate mutase2	Q32KV0	PGAM2	680,7322	35,97	9,2446/28666	9,38441/27
76	Glyceraldehyde-3p dehydrogenase	P10096	GAPDH	228,7639	41,14	8,5151/35845	9,62557/30
89	Malate dehydrogenase cytoplasmic	Q3T145	MDH1	1408,859	39,52	6,1421/36415	6,29374/35
	L-lactate dehydrogenase B chain	Q5E9B1	LDHB	259,6533	29,34	5,9971/36700	6,29374/35
	Glyceraldehyde-3p dehydrogenase	P10096	GAPDH	196,2061	21,32	8,5151/35845	6,29374/35
90	Malate dehydrogenase cytoplasmic	Q3T145	MDH1	501,9362	31,44	6,1421/36415	5,98912/35
90	Glyceraldehyde-3p dehydrogenase	P10096	GAPDH	342,231	38,44	8,5151/35845	5,98912/35
117	Aspartate aminotransferase cytoplasmic	P33097	GOT1	14830,77	60,78	7,2715/46369	8,34361/40
Estrutura muscular							
8	Troponin T_ slow skeletal muscle	Q8MKH6	TNNT1	515,3535	22,05	5,5825/31265	5,74161/35

	Actin_ alpha skeletal muscle	P68138	ACTA1	14686,46	72,41	5,0713/42023	5,74161/35
8	Tropomyosin beta chain	Q5KR48	TPM2	1415,273	52,46	4,4575/32816	5,74161/35
8	F-actin-capping protein subunit alpha-2	Q5E997	CAPZA2	585,4048	40,91	5,4756/32958	5,74161/35
	Myosin light chain 1/3_ skeletal musc. isoform	A0JNJ5	MYL1	18607,84	94,79	4,7695/20918	5,24660/22
49	Myosin light chain 3	P85100	MYL3	1814,136	60,30	4,8105/21924	5,24660/22
	Actin_ gamma-enteric smooth muscle	Q5E9B5	ACTG2	701,9635	31,91	5,1606/41849	5,24660/22
	Tropomyosin beta chain	Q5KR48	TPM2	152,7947	34,51	4,4575/32816	5,24660/22
51	Actin_ gamma-enteric smooth muscle	Q5E9B5	ACTG2	807,9066	39,10	5,1606/41849	9,75249/21
61	Elongation factor 1-alpha 1	P68103	EEF1A1	274,394	21,43	9,3428/50109	7,14415/24
	Tropomyosin beta chain	Q5KR48	TPM2	501,6047	35,92	4,4575/32816	7,38531/24
63	Tropomyosin alpha-1 chain	Q5KR49	TPM1	188,7075	38,38	4,4897/32674	7,38531/24
	Alfa-actinin-3	Q0III9	ACTN3	517,8506	51,94	5,1519/103086	7,38531/24
71	Actin_ alpha skeletal muscle	P68138	ACTA1	5034,449	54,91	5,0713/42023	9,38441/27
76	Elongation factor 1-alpha 1	P68103	EEF1A1	2310,678	11,26	9,3428/50109	9,62557/30
	Tropomyosin alpha-1 chain	Q5KR49	TPM1	217,3634	49,65	4,4897/32674	6,29374/35
89	Actin_ alpha skeletal muscle	P68138	ACTA1	2104,299	64,19	5,0713/42023	6,29374/35
	Troponin T_ slow skeletal muscle	Q8MKH6	TNNT1	4541,778	44,11	5,5825/31265	6,29374/35
90	Tropomyosin alpha-1 chain	Q5KR49	TPM1	242,843	63,03	4,4897/32674	5,98912/35
	F-actin-capping protein subunit alpha-2	Q5E997	CAPZA2	167,0815	16,78	5,4756/32958	5,98912/35
90	Troponin T_ slow skeletal muscle	Q8MKH6	TNNT1	6602,203	47,91	5,5825/31265	5,98912/35
	Actin_ alpha skeletal muscle	P68138	ACTA1	656,7085	38,46	5,0713/42023	5,98912/35
	Tropomyosin alpha-1 chain	Q5KR49	TPM1	188,7075	38,38	4,4897/32674	4,69447/34
92	Tropomyosin beta chain	Q5KR48	TPM2	501,6047	35,92	4,4575/32816	4,69447/34
	Tropomyosin alpha-3 chain	Q5KR47	TPM3	2406,185	80,99	4,4868/32798	4,69447/34

117	Actin_ gamma-enteric smooth muscle	Q5E9B5	ACTG2	2494,369	29,52	5,1606/41849	8,34361/40
Demais Proteínas							
8	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit I	Q5E966	EIF3I	599,1484	49,85	5,2617/36449	5,74161/35
	UBX domain-containing protein 1	Q32KW2	UBXN1	284,1233	43,77	5,2661/33381	5,74161/35
	60S acidic ribosomal protein P0	Q95140	RPLP0	179,3015	25,47	5,606/34348	5,74161/35
27	Myoglobin	P02192	MB	12618,4	77,92	7,0854/17066	8,47688/15
	Nucleoside diphosphate kinase B	Q3T0Q4	NME2	397,1306	37,50	8,2075/17304	8,47688/15
61	Protein S100-A2	P10462	S100A2	232,4532	45,36	4,4824/10886	7,14415/24
	Phosducin-like protein 3	Q0VCW8	PDCL3	175,5944	32,08	4,3638/27461	7,14415/24
	UPF0545 protein C22orf39 homolog	Q3SZ70		164,5563	17,31	6,4907/11701	7,14415/24
63	Glutathione S-transferase Mu 1	Q9N0V4	GSTM1	407,6039	42,66	7,2231/25618	7,38531/24
	Keratin_ type II cytoskeletal 7	Q29S21	KRT7	189,8684	12,45	5,6572/51546	7,38531/24
	Peptidoglycan recognition protein 1	Q8SPP7	PGLYRP1	179,796	10,53	9,6343/21049	7,38531/24
71	Carbonic anhydrase 3	Q3SZX4	CA3	17068,79	90,00	7,7783/29351	9,38441/27
	GRB2-related adapter protein	A6QLK6	GRAP	433,8385	24,42	7,4399/25350	9,38441/27
	Desmin	O62654	DES	415,9838	22,34	5,0303/53499	9,38441/27
71	Proteasome subunit alpha type-7	Q3ZBG0	PSMA7	405,7205	48,39	8,707/27851	9,38441/27
	Overexpressed in colon carcinoma 1 protein homolog	P0C914		392,6475	88,89	4,8926/6386	9,38441/27
76	Voltage-dependent anion-selective channel protein 3	Q9MZ13	VDAC3	418,3592	52,65	8,9956/30719	9,62557/30
89	Serine/threonine-protein phosphatase PP1-beta catalytic subunit	Q3SWW9	PPP1CB	1826,813	42,20	5,7715/37162	6,29374/35
	GRB2-related adapter protein	A6QLK6		172,2018	30,41	7,4399/25350	6,29374/35

90	Serine/threonine-protein phosphatase PP1-beta catalytic subunit	Q3SWW9	PPP1CB	754,5063	49,54	5,7715/37162	5,98912/35
	Intraflagellar transport protein 27 homolog	Q0VCN3	IFT27	260,0028	25,81	5,2441/20632	5,98912/35
	N(G)_N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1	P56965	DDAH1	225,174	44,21	5,5928/31269	5,98912/35
	Pancreatic progenitor cell differentiation and proliferation factor	Q3ZCB6	PPDPF	147,5353	43,97	7,3667/12178	5,98912/35
	Cilia- and flagella-associated protein 418	E1BC52	CFAP418	129,5586	24,64	6,1787/23535	5,98912/35
	Ester hydrolase C11orf54 homolog	Q2HJH3		125,4937	24,44	5,9971/35132	5,98912/35
117	GRB2-related adapter protein	A6QLK6	GRAP	629,0734	28,57	7,4399/25350	8,34361/40
	Keratin_ type II cytoskeletal 75	Q08D91	KRT75	228,6061	17,86	7,5835/58999	8,34361/40
	Pancreatic progenitor cell differentiation and proliferation factor	Q3ZCB6	PPDPF	173,8242	28,45	7,3667/12178	8,34361/40

Procedimentos de bioinformática e enriquecimento funcional permitiram identificar diferenças em PB (processos biológicos), FM (funções moleculares) e CC (componentes celulares) entre o controle (Figura 4) e creep feeding (Figura 5).

Alguns PBs predominaram em ambos os grupos: metabolismo de carboidratos (GO:0005975), processo metabólico de moléculas pequenas (GO:0044281), geração de metabólitos precursores e energia (GO:0006091), processo metabólico do ácido carboxílico (GO:0019752). Os PBs, predominantes no grupo controle foram: processo metabólico organofosforado (n = 8, GO:0019637), processo catabólico de carboidratos (n = 7, GO:0016052) e metabolismo de glicose (n = 6, GO:0006006). No grupo creep feeding, os PBs predominantes foram: contração muscular (n = 6, GO:0006936) e organização das fibras supramoleculares (n = 6, GO:0097435).

Em relação a FM, proteínas foram identificadas apenas no grupo controle com função relacionada a atividades isomerase (n = 5, GO:0016853), carbo-oxigênio liase (n = 4, GO:0016835) e fosfopiruvato hidratase (n = 2, GO:0004634). No CC, nos dois grupos houve predomínio das proteínas de citoplasma (GO:0005737), citoesqueleto (GO:0005856), fibra supramolecular (GO:0099512), citoesqueleto de actina (GO:0015629) e fibra polimérica do citoesqueleto (GO:0099513).

Com base nos termos de ontologia genética, os processos celulares referentes a atividade quinase (GO:0016301), processo metabólico da glicose, regulação da cascata MAPK (GO:0043408), atividade quinase do receptor beta-adrenérgico (GO:0047696), processo baseado em filamento de actina (GO:0030029) e processo de sistema muscular (GO:00003012) foram regulados positivamente nos animais do grupo creep feeding (Figura 6-A, 7-A e 7-B). Vias de proteínas motoras (hsa:04814) e atividade isomerase foram mais enriquecidas nos animais controle.

Alguns processos biológicos foram enriquecidos nos dois tratamentos, porém os animais do grupo creep feeding apresentaram uma resposta mais intensa, tais como: processos metabólicos (GO:0008152), processo organismo multicelular (GO:0032501), processo celular (GO:0009987), processo de desenvolvimento (GO:0032502), respostas a estímulos (GO:0050896) e regulação de processos biológicos (GO:0050789).

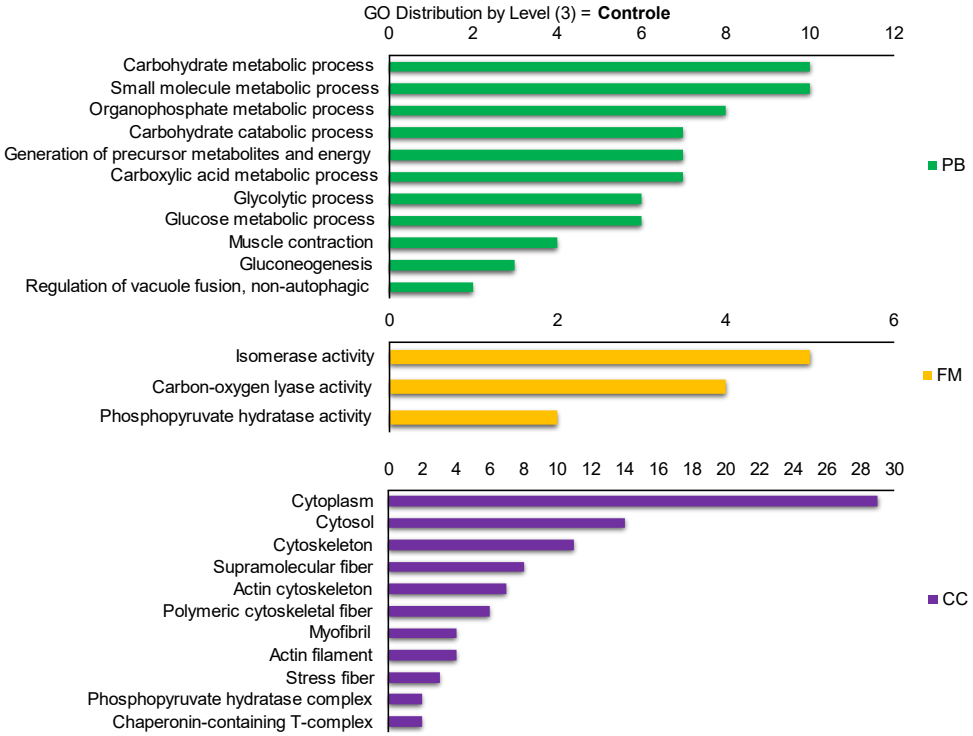

Figura 4: Classificação das proteínas identificadas no músculo *Longissimus thoracis* de novilhos F1 Angus-Nelore não suplementados em creep feeding e confinados após o desmame. O software OMICSBOX foi utilizado para classificar as proteínas de acordo com o processo biológico (PB), função molecular (FM) e componente celular (CC).

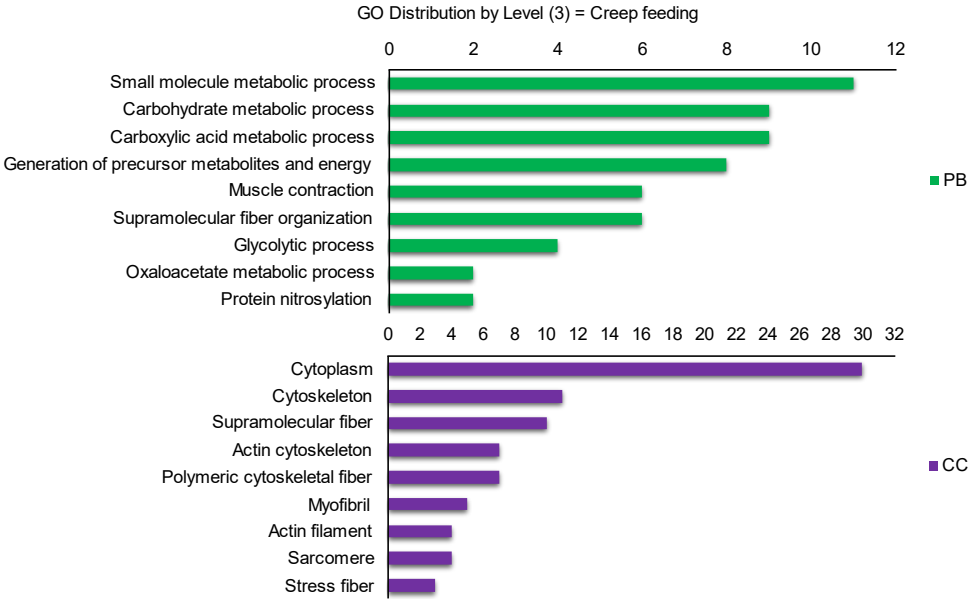

Figura 5: Classificação das proteínas identificadas em amostras no músculo *Longissimus thoracis* de novilhos F1 Angus-Nelore suplementados em creep feeding e confinados após o desmame. O software OMICSBOX foi utilizado para classificar as proteínas de acordo com o processo biológico (BP), função molecular (MF) e componente celular (CC).

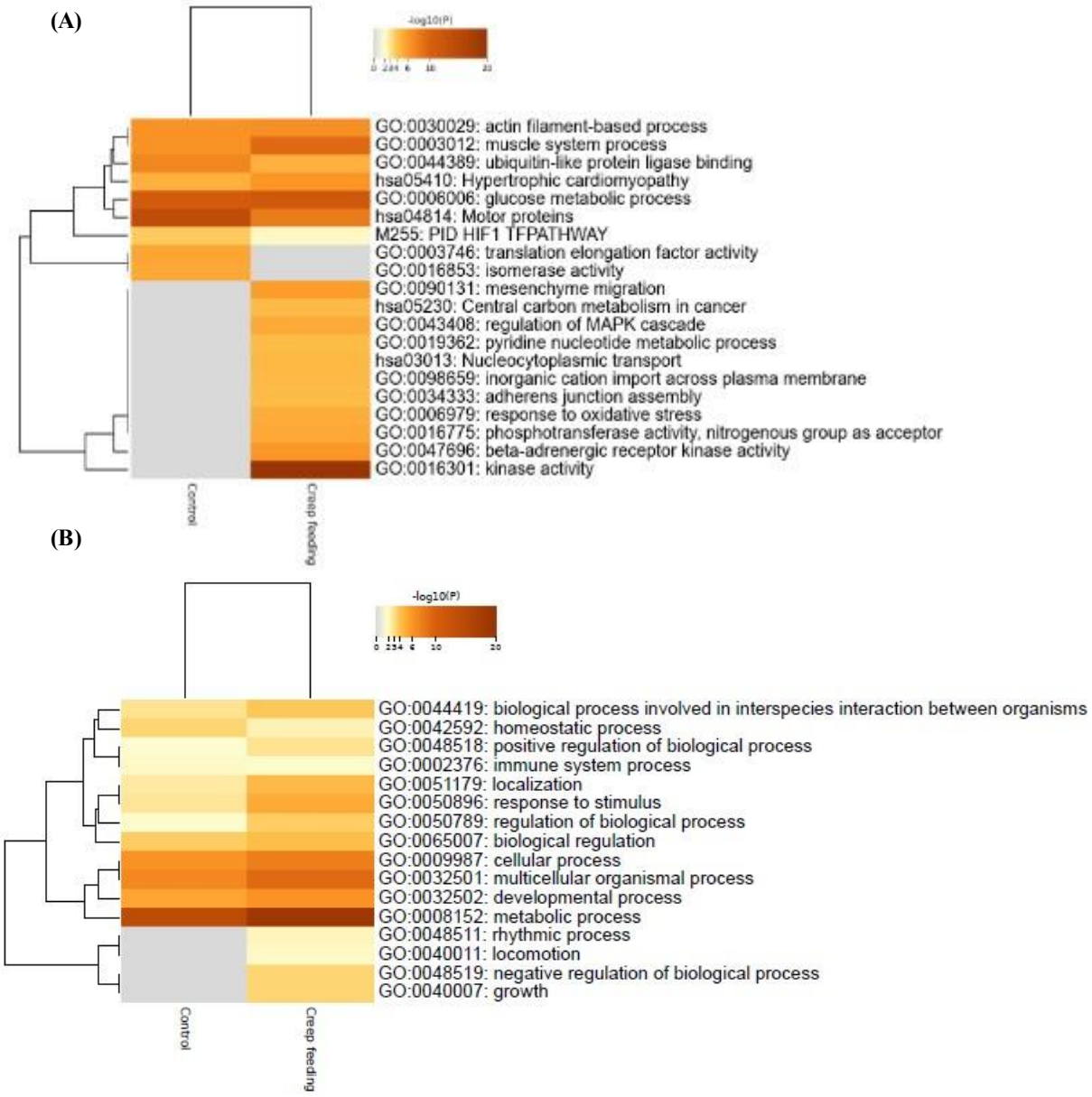

Figura 6: Análises de ontologia gênica (GO) baseadas nas proteínas diferencialmente abundantes identificadas no musculo *Longissimus thoracis* de novilhos F1 Angus-Nelore suplementados ou não em creep feeding e confinados após o desmame. (A) Agrupamento hierárquico do mapa de calor comparando os 20 primeiros processos celulares significativamente enriquecidos. (B) Processo biológico significativamente enriquecido.

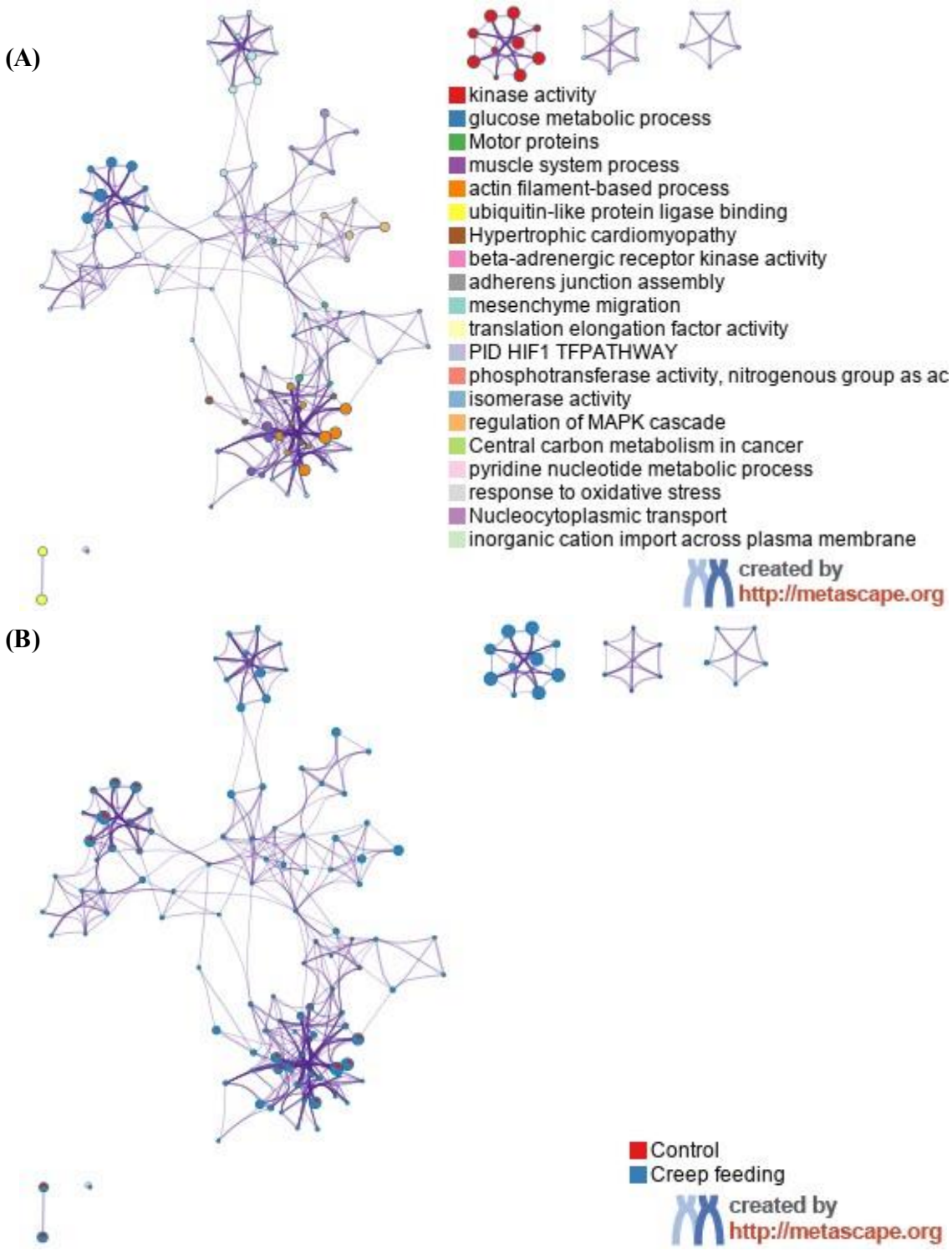

Figura 7: (A) Rede enriquecida relacionada aos termos da Figura 6 A e seu grau de interconexão. (B) A mesma rede de enriquecimento com destaque para os grupos experimentais.

Análise bioinformática adicional foi efetuada para comparar a sobreposição de proteínas entre grupos experimentais usando o gráfico Circos (Figura 8). Essa análise mostra a sobreposição e as conexões funcionais entre as proteínas e possibilita comparar os termos de ontologia enriquecidos entre os tratamentos, e

identificar aqueles que foram compartilhados ou específicos. Quinze termos GO foram comuns a ambas as listas de proteínas, agrupados em 3 classes: estrutura/contração muscular, sinalização/estrutura celular e metabolismo energético.

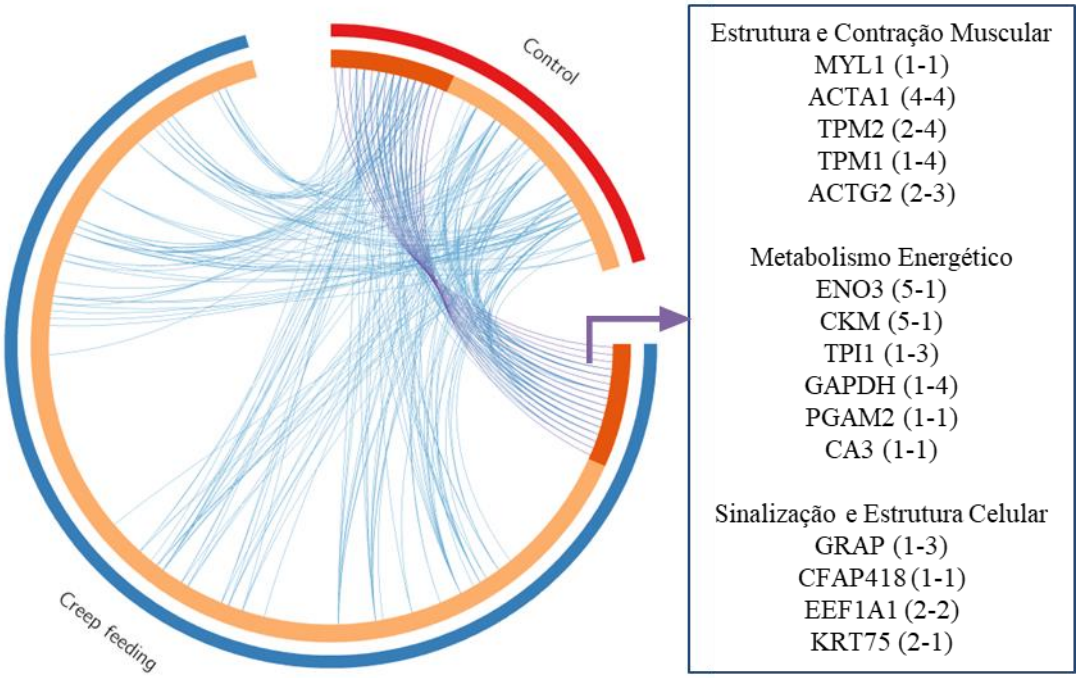

Figura 8: Análise de sobreposição de proteínas entre os grupos experimentais com base nas 151 proteínas diferencialmente abundantes identificadas no musculo *Longissimus thoracis* de novilhos F1 Angus-Nelore suplementados ou não em creep feeding e confinados após o desmame. O arco externo representa o grupo experimental, vermelho para controle e azul para creep feeding. No interior, a cor laranja escura representa as proteínas presentes nos dois grupos e a cor laranja clara representa as proteínas que são exclusivas de um grupo. As linhas roxas ligam as proteínas que estão presentes nos dois grupos. As linhas azuis ligam as proteínas, embora diferentes, enquadram-se no mesmo termo ontológico.

As interações proteína-proteína foram analisadas nos tratamentos controle (Figura 9) e creep feeding (Figura 10). No grupo controle, 2 grupos principais (*clusters*) bem definidos foram identificados: proteínas relacionadas ao metabolismo energético (*ENO1, ENO3, GAPDH, GPD1, GPI, LDHA, PGAM2, PGM1, PYGM e TPI1*), contração muscular (*ACTA1, ALB, CKM, MYL1, TNNT3 e TPM2*), e uma discreta rede relacionada a divisão celular (*TCP1 e CCT6A*). No grupo creep feeding, também identificamos os mesmos 2 *clusters* principais: proteínas relacionadas ao metabolismo energético (*CA3, EIF3I, ENO3, ETFB,*

GAPDH, GOT1, LDHB, MDH1, RPIA, RPLP0, TPI1 e VDAC3) e contração muscular (*ACTA1, ACTN3, CKM, DES, MB, MYL1, PGAM2, TNNT1, TPM1, TPM2 e TPM3*). Algumas das proteínas encontradas em ambos os grupos são consideradas moléculas importantes no metabolismo energético, como *GAPDH, CKM e ENO3.*

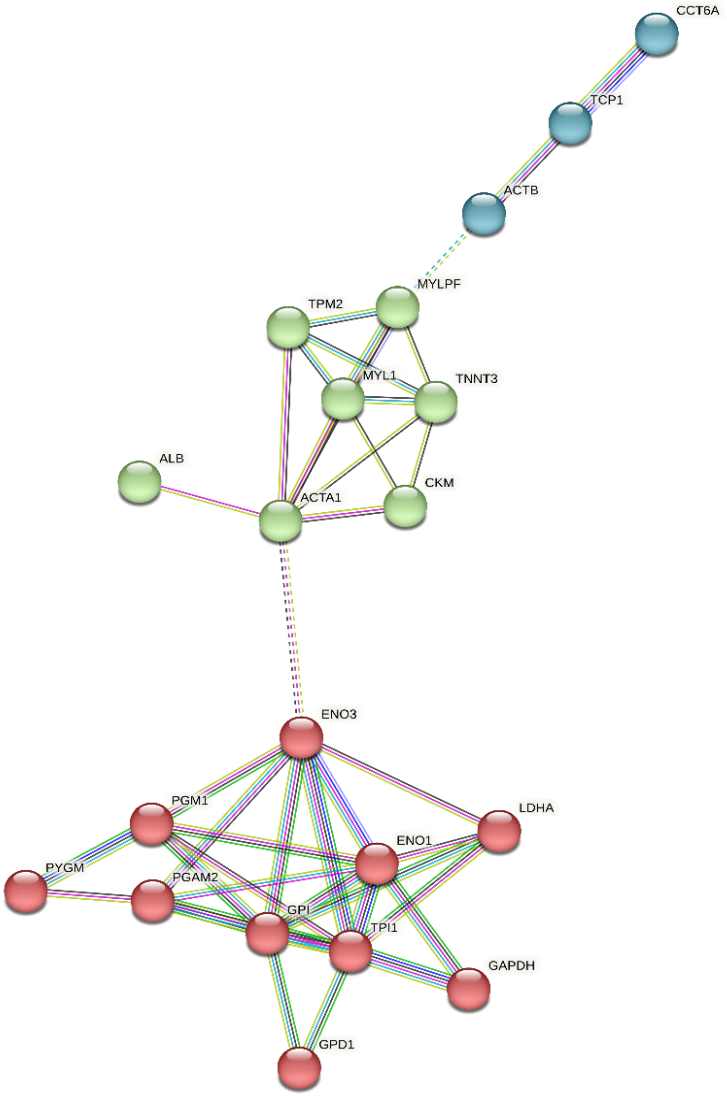

Figura 9: Análise das interações proteína-proteína utilizando as proteínas diferencialmente abundantes no musculo *Longissimus thoracis* de novilhos F1 Angus-Nelore não suplementados em creep feeding e confinados após o desmame.

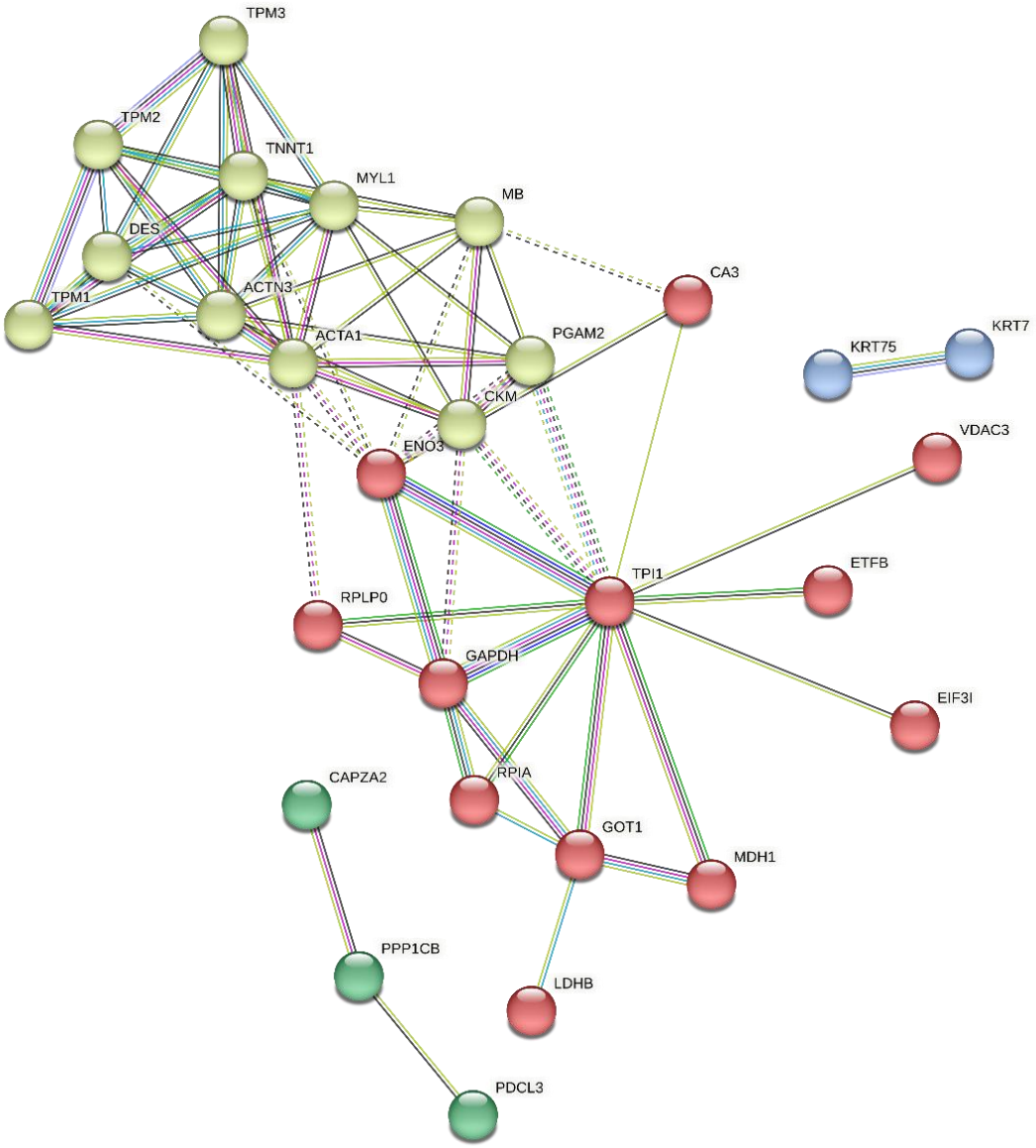

Figura 10: Análise das interações proteína-proteína utilizando as proteínas diferencialmente abundantes no musculo *Longissimus thoracis* de novilhos F1 Angus-Nelore suplementados em creep feeding e confinados após o desmame.

15.1 Discussão

Neste estudo, animais de mesma idade, classe sexual, raça - incluindo ascendência paterna e alimentados em confinamento exatamente com o mesmo manejo nutricional, apresentaram respostas diferentes de IM, entretanto, com maciez da carne semelhantes de acordo com à estratégia nutricional adotada durante o período pré desmame. Demonstramos que a suplementação em creep feeding durante o período de aleitamento afeta o proteoma muscular e melhora o índice de marmoreio em 14% durante a fase de terminação, porém essa estratégia nutricional não afeta a maciez da carne. Compreender os mecanismos relacionados à deposição de gordura intramuscular é importante para delinear estratégias que favoreçam a expressão de características organolépticas com eficácia.

Composição física da carne

A suplementação em creep feeding de forma geral pouco afetou as características físicas da carne, como o pH, cor e maciez. Em nosso estudo os animais foram retirados da pastagem e alimentados com a mesma dieta em confinamento por um total de 200 dias. Outros estudos já demonstraram que uma estratégia de alimentação comum por um período superior a 110 dias é capaz de equiparar os parâmetros de qualidade de carne independentemente de estratégias nutricionais anteriores (Silva et al., 2017, 2019; Torrecilhas et al., 2021).

Considerando que o único fator distinto aos dois grupos foi o uso de creep feeding, os aspectos que poderiam exercer influência na força de cisalhamento da carne seriam aqueles afetados pela estratégia anterior, índice de marmoreio e a espessura de gordura subcutânea. Embora haja uma correlação dos atributos de maciez da carne com o teor de gordura intramuscular (Choi et al., 2019), o grau de marmoreio responde por apenas 3 a 10% da variação na maciez sensorial da carne bovina e esse efeito é mais expressivo em um maior nível de marmoreio (Nishimura, 2015). Além disso, embora tenhamos observado um aumento importante no escore de gordura intramuscular, isso representa um incremento de 40 pontos de gordura. A redução na força de cisalhamento era esperada, pois durante a maturação post mortem a atividade prolongada de enzimas proteolíticas

naturalmente presentes na carne promove à proteólise de proteínas miofibrilares que resultam em carne mais macia (Lana e Zolla, 2016).

Conforme a gordura intramuscular aumenta o teor de umidade reduz, também houve um aumento na espessura da gordura subcutânea. O aumento da gordura pode minimizar o teor total de umidade na carcaça (King et al., 2006), consequentemente a perda de água durante o cozimento é menor em carnes com maior teor de gordura (Frank et al., 2016). No entanto, observamos uma maior perda por cocção apenas para o grupo controle com 7 dias de maturação.

A gordura é de cor mais clara que o componente muscular e, portanto, sua presença pode contribuir para o maior valor de L* que encontramos. O que está de acordo com uma consolidada correlação positiva entre o teor de gordura intramuscular e o valor L* (Fiems et al., 2003; Pflanzer e Felício, 2009; Gagaoua et al., 2018; Lee e Choi, 2019).

Proteoma muscular

A gordura de marmoreio é uma característica importante pois influência nos atributos de qualidade e palatabilidade da carne bovina (Park et al., 2018). A formação de adipócitos ocorre durante a gestação e permanece até cerca de 250 dias de idade (Du et al., 2013). O fornecimento precoce de uma dieta rica em grãos, nesse período pós natal pode induzir ao recrutamento especifico de adipócitos intramusculares que fornecerão locais para deposição de gordura durante a fase final (Du et al., 2013). Em um estudo complementar, Ramírez-Zamudio et al., (2023) demonstraram que a suplementação em creep feeding afetou o metabolismo energético através da regulação positiva de genes relacionados a sinalização *PPAR (PPARA, SLC27A1, FABP3 e DBI*), e assim favoreceu a deposição de gordura intramuscular no período pós-desmame. Além disso, esses autores identificaram que o uso de creep feeding influencia os processos lipogênicos ao regular positivamente genes relacionados à biossíntese (*FASN, SCD, SCD5, FADS1 e FADS2*) e absorção de ácidos graxos (*FABP3*), enquanto reduz a expressão de fatores de transcrição relacionados à β-oxidação (*CPT1A, CPT1B e UCP3*).

A maior abundância de *GAPDH e TPI* pode indicar um aumento no metabolismo do musculo esquelético da glicose (Silva, Rodrigues, et al., 2019). Foi proposto que a glicose é uma fonte importante de carbono para a síntese de

novo de ácidos graxos da gordura intramuscular (Smith, 1984). Embora algumas proteínas terem sido diferencialmente abundantes em ambos os grupos, essas enzimas foram mais abundantes no grupo creep feeding, que apresentaram maior índice de marmoreio na carne. A enzima *TPI1* converte reversivelmente dihidroxiacetona fosfato em gliceraldeído 3-fosfato e o *GAPDH* interconverte o gliceraldeído 3-fosfato em 1,3-bifosfoglicerato. Nesse sentido, diferentes fenótipos estudados anteriormente em condições similares as atuais, apresentaram maior expressão de *GAPDH e TPI1* no proteoma de animais com maior teor de gordura. Fatores de produção como a duração da fase de terminação são importantes pois podem modificar a abundância das proteínas (Picard et al., 2019). Esses estudos incluem novilhas e novilhos (Severino et al., 2022), animais que receberam injeção intramuscular de vitamina A no dia do nascimento (Scapol et al., 2023), além de novilhos e touros, tanto Nelore (Silva, Rodrigues, et al., 2019) quanto cruzados (Santiago et al., 2023).

Em estudos de proteoma de novilhos F1 Nelore-Montana, a *CA3* foi menos abundante em animais com maior gordura intramuscular (Scapol et al., 2023; Severino et al., 2022). A *CA3* catalisa a hidratação reversível do dióxido de carbono e está relacionada ao aumento do metabolismo oxidativo. No entanto, no presente estudo, *CA3* foi igualmente abundante no tecido muscular dos 2 grupos e teve interação apenas no grupo creep feeding. Portanto, a ausência de alteração no metabolismo oxidativo associado a um aumento da disponibilidade energética celular, pode favorecer a síntese de gordura nos tecidos.

Os tratamentos experimentais afetaram o proteoma do tecido muscular dos bovinos sem alterar a maciez da carne, tais como: *GAPDH, MDH1, ENO1, ENO3, CKM, TPI1, PGM1* (enzimas glicolítica, TCA), *ACTA1, MYL1, MYL3, TNNT1, TNNT3* (proteínas estruturais) (Rosa et al., 2018; Gagaoua et al., 2020; Huang et al., 2020b; Gagaoua et al., 2021). *ACTA1 e MYL1* foram diferencialmente abundantes nos dois grupos. Apesar de *ENO3 e CKM* terrem sido abundantes em ambos os grupos, essas enzimas estão fortemente presentes no tratamento controle. Enquanto *MDH1, MYL3, TNNT1* foram encontradas exclusivamente no tratamento creep feeding, *ENO1, TNNT3* e PGM1 foram identificadas especificamente no grupo controle. No entanto, não houve diferença na maciez da carne entre os grupos. Esses biomarcadores de maciez identificados em

ambos os tratamentos ou distribuídos inespecificamente, podem ajudar a explicar essa ausência de diferença na força de cisalhamento.

16.1 Conclusão

A suplementação em creep feeding afeta proteínas musculares relacionadas principalmente a atividade glicolítica e a estrutura muscular, mas essas alterações não são suficientes para impactar a maciez da carne. O uso desta estratégia associado a terminação em confinamento por um período de 200 dias contribuiu para melhorar o índice de marmoreio da carne.

17.1 Referências

Baldassini, W. A., Braga, C. P., Chardulo, L. A. L., Silva, J. A. I. V., Malheiros, J. M., De Albuquerque, L. G., Fernandes, T. T., & Padilha, P. D. M. (2015). Bioanalytical methods for the metalloproteomics study of bovine longissimus thoracis muscle tissue with different grades of meat tenderness in the Nellore breed (Bos indicus). **Food Chemistry**, 169, 65–72. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.131

Baldassini, W. A., Chardulo, L. A. L., Silva, J. A. V., Malheiros, J. M., Dias, V. A. D., Espigolan, R., Baldi, F. S., Albuquerque, L. G., Fernandes, T. T., & Padilha, P. M. (2017). Meat quality traits of Nellore bulls according to different degrees of backfat thickness: A multivariate approach. **Animal Production Science,** 57(2), 363–370. https://doi.org/10.1071/AN15120

Braga, C. P., Vieira, J. C. S., Grove, R. A., Boone, C. H. T., Leite, A. de L., Buzalaf, M. A. R., Fernandes, A. A. H., Adamec, J., & Padilha, P. de M. (2017). A proteomic approach to identify metalloproteins and metal-binding proteins in liver from diabetic rats**. International Journal of Biological Macromolecules**, 96, 817–832. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.12.073

Bray, Chas. I. (1934). Creep Feeding Beef Calves. **Journal of Animal Science**, 1934(1), 96–98. https://doi.org/10.2527/JAS1934.1934196X

Cañeque, V., Pérez, C., Velasco, S., Díaz, M. T., Lauzurica, S., Álvarez, I., Ruiz De Huidobro, F., Onega, E., & De La Fuente, J. (2004). Carcass and meat quality of light lambs using principal component analysis. **Meat Science**, 67(4), 595–605. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.01.002

Choi, Y. M., Garcia, L. G., & Lee, K. (2019). Correlations of sensory quality characteristics with intramuscular fat content and bundle characteristics in bovine longissimus thoracis muscle. **Food Science of Animal Resources**, 39(2), 197–208. https://doi.org/10.5851/kosfa.2019.e15

Du, M., Huang, Y., Das, A. K., Yang, Q., Duarte, M. S., Dodson, M. V., & Zhu, M. J. (2013). 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

Fiems, L. O., De Campeneere, S., Van Caelenbergh, W., De Boever, J. L., & Vanacker, J. M. (2003). Carcass and meat quality in double-muscled Belgian Blue bulls and cows. **Meat Science,** 63, 345–352. www.elsevier.com/locate/meatsci

Frank, D., Joo, S. T., & Warner, R. (2016). Consumer Acceptability of Intramuscular Fat. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, 36(6), 699–708. https://doi.org/10.5851/KOSFA.2016.36.6.699

Gagaoua, M., Bonnet, M., & Picard, B. (2020). Protein Array-Based Approach to Evaluate Biomarkers of Beef Tenderness and Marbling in Cows: Understanding of the Underlying Mechanisms and Prediction. **Foods,** 9(9), 1180. https://doi.org/10.3390/foods9091180

Gagaoua, M., Picard, B., & Monteils, V. (2018). Associations among animal, carcass, muscle characteristics, and fresh meat color traits in Charolais cattle. **Meat Science**, 140, 145–156. https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2018.03.004

Gagaoua, M., Terlouw, E. M. C., Mullen, A. M., Franco, D., Warner, R. D., Lorenzo, J. M., Purslow, P. P., Gerrard, D., Hopkins, D. L., Troy, D., & Picard, B. (2021). Molecular signatures of beef tenderness: Underlying mechanisms based on integromics of protein biomarkers from multi-platform proteomics studies. **Meat Science**, 172, 108311. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108311

Gornall, A. G., Bardawill, C. J., & David, M. M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **The Journal of Biological Chemistry**, 177(2), 751–766. https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)57021-6

Götz, S., García-Gómez, J. M., Terol, J., Williams, T. D., Nagaraj, S. H., Nueda, M. J., Robles, M., Talón, M., Dopazo, J., & Conesa, A. (2008). High-throughput functional annotation and data mining with the Blast2GO suite. **Nucleic Acids Research**, 36(10), 3420–3435. https://doi.org/10.1093/NAR/GKN176

Huang, C., Hou, C., Ijaz, M., Yan, T., Li, X., Li, Y., & Zhang, D. (2020a). Proteomics discovery of protein biomarkers linked to meat quality traits in post-mortem muscles: Current trends and future prospects: A review. **In Trends in Food Science and Technology** (Vol. 105, pp. 416–432). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.030

Huang, C., Hou, C., Ijaz, M., Yan, T., Li, X., Li, Y., & Zhang, D. (2020b). Proteomics discovery of protein biomarkers linked to meat quality traits in post-mortem muscles: Current trends and future prospects: A review. **Trends in Food Science & Technology**, 105, 416–432. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2020.09.030

King, D. A., Morgan, W. W., Miller, R. K., Sanders, J. O., Lunt, D. K., Taylor, J. F., Gill, C. A., & Savell, J. W. (2006). Carcass merit between and among family groups of Bos indicus crossbred steers and heifers. **Meat Science**, 72(3), 496–502. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.08.015

Lana, A., & Zolla, L. (2016). Proteolysis in meat tenderization from the point of view of each single protein: A proteomic perspective. **Journal of Proteomics**, 147, 85–97. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.02.011

Lee, B., & Choi, Y. M. (2019). Correlation of marbling characteristics with meat quality and histochemical characteristics in longissimus thoracis muscle from

Hanwoo steers. **Food Science of Animal Resources**, 39(1), 151–161. https://doi.org/10.5851/kosfa.2019.e12

Moriel, P., Vendramini, J. M. B., Arthington, J. D., Aguiar, A. D., & Caputti, G. (2017). Effects of crude protein level and degradability of limited creep-feeding supplements on performance of beef cow-calf pairs grazing limpograss pastures. **Livestock Science**, 200, 1–5. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.03.020

Nishimura, T. (2015). Role of extracellular matrix in development of skeletal muscle and postmortem aging of meat**.** **Meat Science**, 109, 48–55. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.05.015

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. **In Meat Science** (Vol. 95, Issue 4, pp. 854–870). https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.010

Park, S. J., Beak, S. H., Jung, D. J. S., Kim, S. Y., Jeong, I. H., Piao, M. Y., Kang, H. J., Fassah, D. M., Na, S. W., Yoo, S. P., & Baik, M. (2018). Genetic, management, and nutritional factors affecting intramuscular fat deposition in beef cattle - A review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 31(7), 1043–1061. https://doi.org/10.5713/ajas.18.0310

Pflanzer, S. B., & Felício, P. E. d. (2009). Effects of teeth maturity and fatness of Nellore (Bos indicus) steer carcasses on instrumental and sensory tenderness. **Meat Science**, 83(4). https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.08.011

Picard, B., Gagaoua, M., Al Jammas, M., & Bonnet, M. (2019). Beef tenderness and intramuscular fat proteomic biomarkers: Effect of gender and rearing practices. **Journal of Proteomics,** 200, 1–10. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.03.010

Picard, B., Lebret, B., Cassar-Malek, I., Liaubet, L., Berri, C., Le Bihan-Duval, E., Hocquette, J. F., & Renand, G. (2015). Recent advances in omic technologies for meat quality management. **Meat Science**, 109, 18–26. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.05.003

Ramírez-Zamudio, G. D., Ganga, M. J. G., Pereira, G. L., Nociti, R. P., Chiaratti, M. R., Cooke, R. F., Chardulo, L. A. L., Baldassini, W. A., Machado-Neto, O. R., & Curi, R. A. (2023). Effect of Cow-Calf Supplementation on Gene Expression, Processes, and Pathways Related to Adipogenesis and Lipogenesis in Longissimus thoracis Muscle of F1 Angus × Nellore Cattle at Weaning. **Metabolites**, 13(2), 160. https://doi.org/10.3390/metabo13020160

Rosa, A. F., Moncau, C. T., Poleti, M. D., Fonseca, L. D., Balieiro, J. C. C., Silva, S. L. E., & Eler, J. P. (2018). Proteome changes of beef in Nellore cattle with different genotypes for tenderness. **Meat Science**, 138, 1–9. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.12.006

Santiago, B., Baldassini, W., Neto, O. M., Chardulo, L. A., Torres, R., Pereira, G., Curi, R., Chiaratti, M. R., Padilha, P., Alessandroni, L., & Gagaoua, M. (2023). Post-mortem muscle proteome of crossbred bulls and steers: Relationships with carcass and meat quality. **Journal of Proteomics**, 278, 104871. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2023.104871

Scapol, R. S., Baldassini, W. A., Gagaoua, M., Ramírez-Zamudio, G. D., Ladeira, M. M., Poleti, M. D., Ferraz, J. B. S., Torres, R. de N. S., Torrecilhas, J. A., Pereira, G. L., Machado-Neto, O. R., Curi, R. A., & Chardulo, L. A. L. (2023). Muscle proteome of crossbred cattle that received vitamin A at birth: impacts on meat quality traits. **Livestock Science**, 275, 105316. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2023.105316

Severino, M., Gagaoua, M., Baldassini, W., Ribeiro, R., Torrecilhas, J., Pereira, G., Curi, R., Chardulo, L. A., Padilha, P., & Neto, O. M. (2022). Proteomics Unveils Post-Mortem Changes in Beef Muscle Proteins and Provides Insight into Variations in Meat Quality Traits of Crossbred Young Steers and Heifers Raised in Feedlot. **International Journal of Molecular Sciences**, 23(20), 12259. https://doi.org/10.3390/IJMS232012259/S1

Silva, L. H. P., Assis, D. E. F., Estrada, M. M., Assis, G. J. F., Zamudio, G. D. R., Carneiro, G. B., Valadares Filho, S. C., Paulino, M. F., & Chizzotti, M. L. (2019). Carcass and meat quality traits of Nellore young bulls and steers throughout fattening. **Livestock Science**, 229, 28–36. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.09.012

Silva, L. H. P., Paulino, P. V. R., Assis, G. J. F., Assis, D. E. F., Estrada, M. M., Silva, M. C., Silva, J. C., Martins, T. S., Valadares Filho, S. C., Paulino, M. F., & Chizzotti, M. L. (2017). Effect of post-weaning growth rate on carcass traits and meat quality of Nellore cattle. **Meat Science**, 123, 192–197. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.10.005

Silva, L. H. P., Rodrigues, R. T. S., Assis, D. E. F., Benedeti, P. D. B., Duarte, M. S., & Chizzotti, M. L. (2019). Explaining meat quality of bulls and steers by differential proteome and phosphoproteome analysis of skeletal muscle. **Journal of Proteomics**, 199, 51–66. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.03.004

Smith, S. B., & Crouse, J. D. (1984). Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue.

The Journal of Nutrition, 114(4), 792–800. https://academic.oup.com/jn/article-abstract/114/4/792/4755721

Torrecilhas, J. A., Vito, E. S., Fiorentini, G., Castagnino, P. de S., Simioni, T. A., Lage, J. F., Baldi, F., Duarte, J. M., Silva, L. G. Reis, R. A., & Berchielli, T. T. (2021). Effects of supplementation strategies during the growing phase on meat quality of beef cattle finished in different systems. **Livestock Science**, 247, 104465. https://doi.org/10.1016/J.LIVSCI.2021.104465

Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., & Koohmaraie, M. (1996). Sampling, Cooking, and Coring Effects on Warner-Bratzler Shear Force Values in Beef 1,2. **Journal of Animal Science**, 74, 1553–1562. https://academic.oup.com/jas/article-abstract/74/7/1553/4633776