

Juliana Akamine Torrecilhas

**Desmame precoce com suplementação nos perfis proteômicos do músculo
Longissimus thoracis em bovinos Nelore criados em sistema baseado em
pastagem**

Relatório de Pós-doutorado realizado na Universidade
Estadual Paulista (UNESP): Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia de Botucatu.

Supervisor: Luis Artur Loyola Chardulo

Fapesp: 2022/10240-8

Botucatu

2025

23 **Resumo**

24 O objetivo deste estudo foi comparar os perfis proteômicos do músculo *Longissimus thoracis* (LT) de
25 bovinos Nelore submetidos ao desmame precoce e convencional, ambos criados em sistemas de pastagem.
26 Quarenta bezerros machos da raça Nelore foram distribuídos em dois grupos de tratamento: desmame
27 precoce (DP; n = 20) aos 120 dias e desmame convencional (DC; n = 20) aos 205 dias. O grupo DP recebeu
28 suplementação proteico-energética de 10 g/kg de peso corporal (PC)/dia até os 205 dias, sendo que, após
29 esse período, ambos os grupos foram reunidos e mantidos em pastagem, com suplementação de 3 g/kg
30 PC/dia durante a fase de crescimento (até os 693 dias) e 5 g/kg PC/dia durante a terminação (até os 915
31 dias). Amostras de biopsia do LT foram coletadas aos 205 dias de experimento e antes do abate, para análise
32 do proteoma do tecido muscular. A identificação e quantificação das proteínas foram realizadas por
33 espectrometria de massas acoplada à cromatografia líquida nanoLC-MS/MS, utilizando um sistema
34 composto por um cromatógrafo líquido Ultimate 3000 acoplado a um espectrômetro de massas Q-Exactive
35 Hybrid Quadrupole-Orbitrap. As comparações realizadas foram: 1) DP vs. DC aos 205 dias; 2) DP vs. DC
36 no abate; 3) abate vs. 205 dias – DP; 4) abate vs. 205 dias – DC. Aos 205 dias, o DP apresentou redução na
37 expressão de proteínas envolvidas na beta-oxidação (CPT1B, ACADVL, HADHA, HADHB) e aumento de
38 proteínas associadas à lipogênese (FASN) e ao crescimento muscular (MYH6), além da diminuição de
39 proteínas de choque térmico (HSPA8, HSPA9, HSPB2, HSPB7), em comparação ao DC. No abate, aos 915
40 dias, o grupo DP apresentou menor expressão de CPT1B em comparação ao DC. Na comparação dos
41 tempos, o grupo DP aos 205 dias apresentou maior turnover de ácido graxo (maior expressão de HSD17B8
42 e ECI2) em relação ao abate. Já no grupo DC, observou-se no abate a redução da expressão de proteínas
43 relacionadas à beta-oxidação (ACAA2, ACADS, ACADM, ACADVL, HADH) e melhora no estado
44 energético (menor expressão de IDH3A, IDH3B, IDH3G, MDH2 e SDHB), em comparação aos 205 dias.
45 Esses achados sugerem que, aos 205 dias, em comparação ao controle, o desmame precoce com
46 suplementação resulta em redução das proteínas envolvidas na beta-oxidação, aumento daquelas ligadas à
47 lipogênese e maior expressão de proteínas associadas ao crescimento muscular. No entanto, esse efeito não
48 foi mantido até o momento do abate.

49

50 **Keywords:** beta-oxidation; fatty acid metabolism, lipogenesis

51

52 1. Introdução

53 O marmoreio, ou gordura intramuscular, refere-se à gordura localizada entre as fibras musculares,
54 sendo reconhecido como um fator chave que influencia as características sensoriais da carne, como sabor,
55 suculência e maciez (O'Quinn, 2018). A melhora na deposição de gordura intramuscular depende do
56 aumento no número de células durante o processo inicial de formação dos adipócitos (hiperplasia) e do
57 aumento no tamanho dessas células (hipertrofia) (Du et al., 2015). A gordura intramuscular se desenvolve
58 mais tardiamente do que outros tipos de tecido adiposo. A formação das células responsáveis pelo
59 marmoreio tem início por volta dos 180 dias de gestação, e a hiperplasia dos adipócitos continua até que o
60 animal atinja aproximadamente 250 dias de idade (Du et al., 2015). Nesse contexto, determinadas
61 estratégias alimentares aplicadas durante esse período podem favorecer a deposição de gordura
62 intramuscular, resultando em maior marmoreio no momento do abate.

63 O desmame precoce é uma estratégia de manejo que promove a recuperação mais rápida da
64 condição corporal das vacas, permitindo um retorno antecipado ao ciclo reprodutivo e melhores taxas de
65 prenhez na estação de monta subsequente (Nishimura, 2023). No entanto, o desmame também é um evento
66 estressante para os bezerros, impondo desafios fisiológicos, físicos e comportamentais que podem
67 comprometer seu desempenho (Abitante, 2024). A separação abrupta da mãe pode resultar em redução da
68 ingestão de alimentos e perda de peso, especialmente quando não são adotadas medidas adequadas de
69 suporte nutricional e ambiental (Rasby, 2007). Quando associado à suplementação adequada, o desmame
70 precoce pode ser uma estratégia para potencializar o crescimento do tecido muscular e adiposo nos animais
71 (Fluharty 2000, Shoup 2015).

72 Entretanto a raça é um fator chave que influencia a deposição de gordura intramuscular. Em
73 comparação às raças taurinas, os bovinos zebuínos são conhecidos por sua capacidade significativamente
74 menor de depositar gordura intramuscular (Teixeira 2017, Cooke 2020). No estudo com bovinos Angus ×
75 Nelore revelou que o desmame precoce afeta significativamente a expressão gênica associada ao
76 metabolismo de lipídios e ácidos graxos, promovendo o aumento de vias metabólicas essenciais para a
77 adipogênese e a lipogênese em comparação ao desmame convencional (Ramírez-Zamudio, 2023, Loy 2000,

78 Shoup 2015). O impacto do desmame precoce associado à suplementação em bovinos zebuínos criados em
79 condições de clima tropical permanece pouco explorado, e os estudos disponíveis apresentam resultados
80 divergentes. Ressalta-se, ainda, que os efeitos dessa estratégia nutricional a longo prazo, especialmente
81 sobre o desempenho produtivo e a qualidade da carne, não estão devidamente documentados. Além disso,
82 não existem estudos aprofundados que investiguem o perfil proteômico de animais zebuínos tanto no
83 momento da desmama quanto na fase de abate.

84 Nesse contexto, nosso experimento tem como objetivo avaliar o efeito do desmame precoce aliado
85 à suplementação sobre o proteoma do músculo *Longissimus thoracis* (LT) de bovinos Nelore criados em
86 sistema à base de pasto, aos 205 dias de idade e na fase de abate. Nossa hipótese é que os animais
87 desmamados precocemente apresentarão maior expressão de proteínas relacionadas ao desenvolvimento de
88 músculo e à lipogênese aos 205 dias, com esse efeito persistindo até o final do período de terminação (aos
89 915 dias), resultando em maior crescimento e deposição de gordura intramuscular em comparação ao grupo
90 controle.

91

92

93 2. Material and Métodos

94 Este experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da Universidade de São
95 Paulo (0190/2020). Um experimento de campo foi realizado em uma fazenda comercial devidamente
96 regularizada, localizada no Estado de Mato Grosso (bioma Pantanal), Brasil.

97

98 2.1. Animais e tratamento

99 Este estudo foi conduzido de outubro a abril (915 dias). Foram utilizados quarenta bezerros machos
100 da raça Nelore, nascidos no mesmo mês, filhos de vacas contemporâneas e de mesma ordem de parto. Os
101 animais foram distribuídos em dois tratamentos: desmame precoce (DP; n = 20) aos 120 dias; e desmame
102 convencional (DC; n = 20) aos 205 dias. O grupo DP foi realocado para um piquete com pastagem de capim
103 Panicum (*Panicum maximum cv. Colonião*) e recebeu suplementação comercial (10 g/kg de peso
104 corporal/dia de proteína + energia) dos 120 aos 205 dias. Os bezerros do grupo DC permaneceram com
105 suas respectivas mães no mesmo piquete, também com pastagem de capim Panicum (*Panicum maximum*
106 *cv. Colonião*), do nascimento até os 205 dias de idade. A composição da suplementação está apresentada na
107 Tabela 1.

108 Após os 205 dias de idade, todos os bezerros foram reunidos em um único grupo e transferidos para
109 uma pastagem de capim Brachiaria (*Urochloa cv. Ipyporã*). Durante a fase de crescimento (8 de maio a 7
110 de setembro; 488 dias – dos 206 aos 693 dias de idade), os animais receberam suplementação comercial (3
111 g/kg de peso corporal/dia). Na fase de terminação (8 de setembro a 17 de abril; 222 dias – dos 694 aos 915
112 dias de idade), os bezerros foram suplementados com proteína (5 g/kg de peso corporal/dia). Durante todo
113 o período experimental, os piquetes foram equipados com bebedouros e cochos cobertos com acesso
114 bilateral para suplementação, sendo a oferta realizada diariamente.

115 Todos os bezerros foram pesados após jejum de 16 horas nos seguintes momentos: início da fase
116 de desmame precoce (120 dias de idade – peso corporal inicial), desmame convencional (205 dias), final
117 da fase de crescimento (693 dias) e antes do abate (915 dias). O ganho médio diário de peso (GMD) foi
118 calculado com base no ganho de peso corporal e no número de dias em cada fase.

119

120 2.2. *Coleta de amostra (205 e 915 dias)*

121 Cincos amostras por grupo foram coletadas. Aproximadamente 1 g do músculo LT (desmame
122 precoce e convencional; n = 10) foi coletado por biópsia entre a 12^a e 13^a costela aos 205 dias, e os mesmos
123 animais foram amostrados novamente aos 915 dias (antes do abate, no final da fase de terminação). Para
124 esse procedimento, um anestésico local foi administrado por via subcutânea, e o local foi raspado e
125 higienizado. Em seguida, foi feita uma incisão de 1 cm com lâmina de bisturi, e uma agulha de biópsia
126 estéril foi utilizada para obter 1 g de tecido muscular. A amostra foi imediatamente transferida para
127 nitrogênio líquido e armazenada em ultrafreezer a -80 °C.

128

129 2.3. *Extração de proteína e preparação de amostra*

130 As amostras de musculo foram congeladas em Optimal Cutting Fluid (OCT) em tubos de 2 mL
131 contendo matriz de lise A (MP Biomedicals, Irvine, CA, EUA) e tampão de lise (100 mM Tris-HCl pH 8,5,
132 1% deoxicolato de sódio, 10 mM TCEP, 40 mM cloroacetamida e inibidores de protease). A
133 homogeneização das proteínas foi realizada com o equipamento FastPrep-24 (MP Biomedicals), em 3 ciclos
134 de 30 segundos a 6,0 m/s, com intervalos de 5 minutos no gelo. Em seguida, os extratos foram centrifugados
135 por 5 minutos a 13.400 rpm, e o sobrenadante foi transferido para tubos de 1,5 mL com baixa ligação a
136 proteínas.

137 Depois, os extratos foram incubados por 10 minutos a 95 °C em 1000 rpm (Thermomixer,
138 Eppendorf), sonificados por 10 ciclos (30 segundos ligados, 30 segundos desligados a 4 °C; Bioruptor,
139 Diagenode) e centrifugados novamente. O lisado clarificado foi transferido para um novo tubo de 1,5 mL,
140 e a concentração proteica foi determinada. Cem microgramas de proteína de cada amostra foram utilizados
141 para análise proteômica, seguindo o protocolo SP3 (Solid-Phase Enhanced Sample Preparation). A digestão
142 enzimática foi feita com tripsina/LysC (2 µg), incubada durante a noite a 37 °C em 1000 rpm. A
143 concentração de peptídeos resultante foi medida por fluorescência.

144

145 2.4. *Análise de proteína*

146 A identificação e quantificação das proteínas foram realizadas por espectrometria de massas
147 acoplada à cromatografia líquida nanoLC-MS/MS, utilizando um sistema composto por um cromatógrafo
148 líquido Ultimate 3000 acoplado a um espectrômetro de massas Q-Exactive Hybrid Quadrupole-Orbitrap
149 (Thermo Scientific, Bremen, Alemanha). Foram injetados 500 nanogramas de peptídeos de cada amostra
150 em um cartucho de pré-concentração (Acclaim PepMap C18, Thermo Scientific) com fase móvel contendo
151 2% de acetonitrila (ACN) e 0,1% de ácido fórmico (FA), a um fluxo de 10 μ L/min. Após 3 minutos, a
152 coluna de pré-concentração foi conectada em linha a uma coluna analítica EASY-Spray de 50 cm (Thermo
153 Scientific), operando a 250 nL/min. A separação dos peptídeos foi realizada com um gradiente de solventes
154 A (0,1% FA) e B (80% ACN, 0,1% FA), conforme o seguinte programa: de 2,5% para 10% de B em 5
155 minutos, de 10% para 30% de B em 120 minutos, de 30% para 50% de B em 20 minutos, de 50% para 99%
156 de B em 5 minutos, mantendo 99% de B por 10 minutos, seguido do reequilíbrio da coluna com 2,5% de B
157 por 17 minutos. A aquisição dos dados foi feita com os softwares Xcalibur 4.0 e Tune 2.9 (Thermo
158 Scientific). O espectrômetro foi operado no modo dependente de dados (data-dependent), com ionização
159 positiva, alternando entre varredura completa (m/z 380–1580) e fragmentação (HCD) dos 10 íons mais
160 intensos, com energia de colisão normalizada de 27%. A tensão de ionização por spray ESI foi de 1,9 kV,
161 com uso de massa de referência (m/z 445.12003), largura de pico de 15 segundos, resolução de 70.000 para
162 varredura completa e 35.000 para fragmentação, alvo de AGC de 3×10^6 (full scan) e 2×10^5 (MS/MS),
163 tempos máximos de injeção de 120 ms e 110 ms, janela de isolamento de 2,0 m/z , exclusão de cargas não
164 atribuídas e íons de carga 1, 8 e superiores a 8, exclusão dinâmica de 45 segundos, exclusão de isótopos
165 ativada e preferência por peptídeos, com aquisição dos dados no modo perfil.

166

167 2.5. *Carcaça e gordura intramuscular*

168 Após 916 dias, no dia seguinte, todos os animais foram transportados e abatidos em um frigorífico
169 comercial localizado a 307 km da fazenda experimental. Após um total de 24 horas de jejum alimentar
170 (considerando o tempo de transporte e o período de descanso), os novilhos foram abatidos seguindo os
171 procedimentos usuais da indústria da carne bovina no Brasil, conforme o RIISPOA – Regulamento da
172 Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. As carcaças foram divididas
173 longitudinalmente do esterno à coluna vertebral, resultando em duas meias-carcaças semelhantes. Ao final
174 da linha de abate, foi registrado o peso da carcaça quente (PCQ).

175 Em seguida, as meias-carcaças foram lavadas, identificadas e armazenadas em câmara fria a 4 °C
176 por 48 horas. Após esse período, foi mensurada a espessura de gordura subcutânea e área de olho de lombo
177 entre a 12^a e a 13^a costela do músculo LT, utilizando um paquímetro, um planímetro, respectivamente. O
178 pH foi determinado utilizando um medidor de pH digital da marca Hanna (modelo HI 99163, Hanna
179 Instruments, Woonsocket, Rhode Island, Estados Unidos), equipado com eletrodo de penetração. Soluções
180 tampão padrão (pH 4.0 e 7.0) foram utilizadas para a calibração do equipamento. O músculo LT, localizado
181 entre a 12^a e a 13^a costela do lado esquerdo de cada carcaça, foi coletado e embalado a vácuo para análises
182 do teor de gordura intramuscular, extraída conforme descrito por Bligh e Dyer (1959). Resumidamente, 5
183 g da amostra de carne foram submetidos à extração com uma mistura de clorofórmio e metanol (proporção
184 2:1, v/v). Os resultados do teor de gordura intramuscular foram expressos em porcentagem.

185

186 2.6. *Análise de dados*

187 Os dados de espectrometria de massas (abundâncias centradas na mediana) foram processados e
188 analisados utilizando o pacote DEP da linguagem R. A visualização da cobertura proteica foi realizada com
189 base em 20 amostras, sendo retidas apenas as proteínas presentes em pelo menos 80% das amostras, além
190 disso foram eliminadas duplicatas e mantidas aquelas com pelo menos dois peptídeos atribuídos de forma
191 única. Após a filtragem, as proteínas com valores ausentes foram classificadas como dados faltantes
192 aleatórios (MAR) ou não aleatórios (NMAR). Métodos de imputação específicos foram então aplicados a
193 cada categoria (MiniProb para MAR e KNN para NMAR). A distribuição dos dados e a variância foram

194 avaliadas graficamente, e posteriormente foi realizada a normalização por estabilização da variância (VSN),
195 com o objetivo de minimizar a dispersão entre as observações das proteínas retidas para análise.

196 Para avaliar as diferenças nas abundâncias proteicas entre os tratamentos e tempos experimentais,
197 foi utilizado estatística t moderada por Bayes empírico para cada contraste, conforme descrito por Ritchie
198 et al. (2015). Foram feitas as seguintes comparações: 1) Early vs. Desmama Convencional aos 205 dias; 2)
199 Precoce vs. Desmama Convencional ao abate; 3) Abate vs. 205 dias - Desmama Precoce; e 4) Abate vs. 205
200 dias - Desmama Convencional. Proteínas foram consideradas diferencialmente abundantes quando
201 apresentaram: valor de p ajustado para múltiplas comparações pelo método de Benjamini-Hochberg (FDR
202 < 0.05) e \log_2 da razão das médias entre dois tratamentos $\geq |1,5|$.

203 3. Resultados

204 3.1.1. *Desmama precoce e convencional aos 205 dias*

205 Um total de 1453 proteínas foram identificadas entre os grupos DP e DC aos 205 dias. A análise
206 de componentes principais (PCA) mostrou que os dois primeiros componentes principais explicaram mais
207 de 40% da variação entre as amostras (Fig. 1A), sendo observada uma sobreposição. Do total de proteínas
208 identificadas, 145 foram significativas ($P < 0,05$), das quais 37 estavam reguladas positivamente e 108
209 reguladas negativamente no grupo DP (Fig. 1B). A análise de mapa de calor com agrupamento revelou
210 agrupamentos claramente distintos entre os grupos DP e DC aos 205 dias (Fig. 2).

211 As análises de enriquecimento quantitativo revelaram 23 vias metabólicas do KEGG afetadas ($P <$
212 $0,05$; Fig. 3A e B) pelo desmame precoce, sendo três relacionadas à degradação lipídica: via de sinalização
213 do PPAR (*bta00071*), degradação de ácidos graxos (*bta01212*) e metabolismo de ácidos graxos (*bta01212*).

214

215 3.1.2. *Desmama precoce vs. convencional na fase de terminação*

216 Na fase de abate, um total de 1.465 proteínas foram identificadas na comparação entre DP e DC. A
217 análise de componentes principais (PCA) mostrou que os dois primeiros componentes explicaram 52,5%
218 da variação entre as amostras (Fig. 4A e B), sendo observada uma sobreposição. Do total de proteínas
219 identificadas, 45 foram significativas ($P < 0,05$), das quais 1 estava regulada positivamente e 42 estavam
220 reguladas negativamente no grupo DP. A análise de mapa de calor agrupado revelou agrupamentos distintos
221 entre DP e DC no momento do abate (Fig. 5). As análises de enriquecimento quantitativo revelaram 17 vias
222 metabólicas do KEGG afetadas ($P < 0,05$; Fig. 6A e B) pelo desmame precoce, das quais quatro estavam
223 relacionadas ao metabolismo lipídico: via de sinalização PPAR (*bta03320*), degradação de ácidos graxos
224 (*bta00071*) e metabolismo de ácidos graxos (*bta01212*).

225

226 3.1.3. *Abate vs. 205 dias – Precoce e Desmama Convencional*

227 No presente estudo, a comparação entre 205 dias e o abate no grupo DP revelou que 367
228 proteínas ($P < 0,05$) foram significativamente moduladas, de um total de 1463 proteínas identificadas

229 no músculo Longissimus thoracis de novilhos Nelore, sendo 111 proteínas reguladas positivamente e
230 256 reguladas negativamente (Fig. 7A e B). Por outro lado, o grupo DC apresentou 685 proteínas
231 significativas ($P < 0,05$) de um total de 1477, com 201 proteínas reguladas positivamente e 484
232 reguladas negativamente (Fig. 7C e D). Além disso, as análises de mapa de calor agrupado revelaram
233 padrões de expressão distintos entre os grupos DP e DC na comparação entre abate e 205 dias (Fig. 8A
234 e B).

235 As análises de enriquecimento quantitativo para o grupo DP identificaram 6 vias ($P < 0,05$;
236 Fig. 9A e B) na comparação entre abate e 205 dias, das quais duas estavam associadas ao metabolismo
237 lipídico: biossíntese de ácidos graxos (bta00061) e degradação de ácidos graxos (bta00071). Por outro
238 lado, no grupo DC, as análises de enriquecimento quantitativo revelaram 57 vias metabólicas do KEGG
239 ($P < 0,05$; Fig. 10A e B) entre abate e 205 dias. Dentre estas, três vias estavam relacionadas ao
240 metabolismo lipídico: metabolismo de ácidos graxos (bta01212), degradação de ácidos graxos
241 (bta00071), alongação de ácidos graxos (bta00062) e ciclo do citrato (TCA) (bta00020).

242

243 4. Discussão

244 Nos hipostenizamos que o desmame precoce (DP), quando associado à suplementação, pode
245 potencializar a expressão de proteínas envolvidas nas vias de desenvolvimento muscular e deposição de
246 gordura, com efeitos duradouros até o momento do abate. Resultados do mesmo experimento mostraram
247 que bovinos Nelore desmamados precocemente aos 120 dias de idade, em comparação ao desmame
248 convencional aos 205 dias, promoveu a regulação positiva de genes associados a processos essenciais do
249 metabolismo de lipídios e ácidos graxos aos 205 dias de idade (Pedro et al., 2023), entretanto não existem
250 publicações que mostram qual o efeito da desmama precoce no final da fase de terminação.

251 No presente estudo, nos resultados de desempenho, o grupo desmama precoce foi semelhante ao
252 grupo controle no peso corporal aos 205 dias (190.3 vs. 194.4 kg, respectivamente). Durante a fase de
253 crescimento, os animais do grupo DP apresentaram maior GMD ($P = 0.009$; 0.592 vs. 0.552 kg,
254 respectivamente) em relação ao DC, embora o peso corporal aos 693 dias tenha sido semelhante entre os
255 tratamentos ($P = 0.147$; 475 vs. 459 kg, respectivamente). Na fase de terminação, o desempenho dos
256 animais foi semelhante ($P > 0,05$), indicando que o a estratégia de desmame não afetou o peso corporal nem
257 o GMD nesse período (619 vs. 602 kg, e 0.686 vs. 0.685 kg, para DP e DC, respectivamente). O peso de
258 carcaça quente e AOL foram semelhantes ($P = 0.117$) entre os tratamentos (338 vs. 324 kg, 79 vs. 76 cm²,
259 respectivamente). Além disso, a gordura subcutânea e a intramuscular não foram diferentes entre os
260 tratamentos ($P > 0.05$; 2.94 vs. 2.97 mm e 1.71 vs. 1.91 %, respectivamente).

261 No presente estudo, aos 205 dias de idade, foi observada enriquecimento da via associada ao
262 metabolismo lipídico, como a sinalização do *PPAR*, degradação de ácidos graxos e metabolismo de lipídios.
263 Os *PPARs* constituem uma família de receptores nucleares que se ligam aos ácidos graxos e desempenham
264 papéis cruciais na regulação do metabolismo de nutrientes, homeostase energética, diferenciação celular,
265 equilíbrio energético e metabolismo lipídico (Lemay e Hwang, 2006). Todas essas vias apresentaram, em
266 comum, uma redução da proteína Carnitine Palmitoyl transferase 1B (*CPT1B*) no grupo DP. A *CPT1B* é
267 um membro da família das carnitina aciltransferases, localizada na membrana externa da mitocôndria, e
268 desempenha papel fundamental no metabolismo de ácidos graxos de cadeia longa (Casals et al., 2016). Essa

269 enzima catalisa a transferência do grupo acila de um ácido graxo de cadeia longa ligado à CoA para a
270 carnitina, etapa essencial para o transporte mitocondrial desses ácidos graxos e sua subsequente beta-
271 oxidação na mitocôndria (Casals et al., 2016).

272 Nesse contexto, a redução da *CPT1B* sugere que os animais do grupo DP provavelmente
273 apresentaram menor atividade de beta-oxidação, em decorrência da dieta de suplementação em comparação
274 ao grupo controle. Essa hipótese é corroborada pela redução das proteínas acil-CoA desidrogenase de cadeia
275 muito longa (*ACADVL*) e hydroxyacyl-CoA dehydrogenase trifunctional multienzyme complex subunidade
276 e beta (*HADHA* e *HADHB*). A *ACADVL* catalisa a primeira etapa da beta-oxidação de ácidos graxos de
277 cadeia longa, enquanto as proteínas *HADHA* e *HADHB*, localizadas na membrana mitocondrial interna,
278 desempenham funções enzimáticas essenciais nesse processo (Wang et al., 2022).

279 Essa menor demanda energética, decorrente da redução na oxidação de lipídios, também implica
280 em menor necessidade de atividade dos transportadores lipídicos, como evidenciado pela menor expressão
281 das proteínas Sterol Carrier Protein 2 (*SCP2*) e Fatty Acid-Binding Protein 3 (*FABP3*). A *FABP3* pertence
282 à família das fatty acid-binding protein, estando principalmente envolvida no transporte intracelular de
283 ácidos graxos livres e desempenhando um papel crucial no metabolismo lipídico (Lee, 2020). Além disso,
284 a proteína Perilipina 4 (*PLIN4*) foi identificada como regulada negativamente no grupo DP. A *PLIN4* está
285 associada a gotículas lipídicas e exerce um papel fundamental na regulação da lipólise, modulando a
286 mobilização de ácidos graxos a partir dos estoques de tecido adiposo (Nakajima et al., 2018).

287 Embora não tenha sido identificada como enriquecida nas vias metabólicas analisadas, a proteína
288 Fatty Acid Synthase (*FASN*) apresentou regulação positiva no tratamento com desmame precoce (DP)
289 associado à suplementação. A próxima etapa na síntese de ácidos graxos *de novo* envolve a carboxilação
290 da acetil-CoA para formar malonil-CoA, catalisada pela enzima acetil-CoA carboxilase, codificada pelo
291 gene *ACACA* (acetyl-CoA carboxylase alpha) (Ladeira et al., 2016). Subsequentemente, por meio da ação
292 do complexo multienzimático fatty acid synthase, codificado pelo gene *FASN*, uma molécula adicional de
293 acetil-CoA é combinada com moléculas de malonil-CoA em uma série de reações enzimáticas, resultando
294 na síntese de ácidos graxos de cadeia longa (Ladeira, 2016). A glicose estimula a expressão tanto do gene

295 ACACA quanto do FASN, indicando que, além da redução na oxidação de ácidos graxos nesses animais,
296 houve um aumento na síntese lipídica por vias *de novo* aos 205 dias.

297 O desmame é uma fase estressante para os bezerros; o estresse causado pela separação da mãe
298 frequentemente resulta em perda de peso e pode comprometer a função imunológica, aumentando a
299 suscetibilidade a doenças — mesmo em sistemas de desmame com baixos níveis de estresse (Lynch et al.,
300 2019). Nesse contexto, a suplementação nutricional fornecida ao grupo de desmame precoce (DP) pode ter
301 contribuído para o fortalecimento do sistema imunológico, provavelmente por meio do fornecimento de
302 nutrientes essenciais como proteínas, energia, vitaminas e minerais (Martioli, 2020). Esse suporte
303 nutricional também pode ter desempenhado um papel na redução da expressão de proteínas de choque
304 térmico (HSPs), conhecidas por atuarem na proteção celular sob condições de estresse (Golenhofen et al.,
305 2000; Moura et al., 2018; Archana et al., 2017), uma vez que observamos redução na expressão de proteínas
306 da família *HSP*, como *HSPB7*, *HSPA9*, e *HSPA8* no grupo DP. Em conjunto, esses achados indicam que,
307 neste momento, os bezerros do grupo DP já estavam plenamente adaptados à suplementação, o que foi
308 comprovado pela down regulation das proteínas HSP, ao passo que os do grupo DC ainda estavam passando
309 pelo estresse associado ao processo de desmame.

310 The myosin heavy chain 6 (*MYH6*) está envolvida no crescimento e desenvolvimento do músculo
311 esquelético (Sacarrão-Birrento et al., 2024). Embora não tenha sido observada diferença no desempenho
312 nesta fase, é possível que DP estivesse passando por um aprimoramento na deposição muscular. O grupo
313 de DP além de acesso livre a forragem eles receberam suplementação, 1% do PC, o que pode diminuir a
314 taxa de passagem, melhorando a digestibilidade da dieta (forragem) e maior desenvolvimento do tecido
315 muscular. Por outro lado, em condições naturais, o processo de desmame ocorre gradualmente, com a
316 redução progressiva da ingestão de leite devido à diminuição da produção pela vaca, isso tende a diminuir
317 logo nas primeiras semanas de vida, à medida que os bezerros começam a pastar e ruminar (Weary et al.,
318 2008). Nesse sentido a partir dos 120 d de idade, DC possivelmente estavam com menor ingestão de leite
319 e maior ingestão de forragem. Então o similar desempenho, pode estar relacionado ao maior
320 desenvolvimento do trato gastrointestinal no grupo DC e não ao aumento do peso do tecido muscular. Dietas

321 com maior proporção de fibra estimulam o crescimento do trato digestório, e, à medida que a porcentagem
322 de fibra na dieta aumenta, o peso corporal vazio tende a diminuir (Jahn et al., 1970).

323 Ao final, na fase de abate, foram identificadas apenas 43 proteínas diferencialmente expressas na
324 comparação entre DP vs. DC. As vias de *PPAR* signaling, fatty acid degradation e fatty acid metabolism
325 continuaram entre as mais enriquecidas. Proteínas associadas ao metabolismo lipídico (síntese *de novo*,
326 transporte de ácido graxo), metabolismo oxidativo, e ao desenvolvimento do tecido muscular, que estavam
327 presentes aos 205 dias, não foram detectadas no momento do abate, o que possivelmente refletiu na ausência
328 de diferenças significativas no peso final da carcaça e na deposição de gordura entre os dois grupos.

329 Uma possível explicação é que os animais do grupo DP tenham apresentado uma adaptação inicial
330 ao plano nutricional superior, mas, na fase seguinte, não receberam uma ingestão suficiente de nutrientes.
331 Inicialmente os animais DP foram suplementados com 10 g de MS/kg de peso vivo durante a fase de cria,
332 após esse ponto, os animais passaram a receber suplementação de 3 g de MS/kg de peso vivo durante 485
333 dias na fase de recria e, posteriormente, 5 g de MS/kg de peso vivo durante 225 dias na fase de terminação.
334 A limitação na oferta de nutrientes, somada ao aumento nas exigências energéticas de manutenção (Roth et
335 al., 2017), pode ter contribuído para a diluição da diferença observada aos 205 dias.

336 Quando avaliamos cada grupo ao longo do experimento (205 d vs. abate), grupo DP, as mudanças
337 restringiram-se a proteínas como a 17 β -hidroxysteroid dehydrogenase type 8 (*HSD17B8*), encontrada na
338 via de metabolismo e biossíntese de ácidos graxos, a qual apresentou expressão reduzida no abate
339 comparado aos 205 d. Essa proteína está envolvida na síntese de ácidos graxos na mitocôndria (Chen et al.,
340 2009). Além disso, aos 205 dias, esses animais demonstraram maior expressão de Enoyl-CoA Delta
341 Isomerase 2 (*ECI2*), essa isomerase está localizada em peroxissomos e mitocôndrias, onde converte ácidos
342 graxos insaturados com ligações duplas (cis/trans) em posições ímpares, como no caso do ácido oleico e do
343 ácido linoleico permitindo sua entrada na via da beta-oxidação (Onwukwe et al., 2015). Isso mostra que em
344 relação ao abate, aos 205 dias o turnover de ácidos graxos foi mais elevado no DP.

345 Possivelmente, os resultados do experimento estão mais fortemente relacionados às alterações que
346 os animais do grupo DC sofreram ao longo do estudo, pois observou-se um aumento de 48,8% nas proteínas

347 diferencialmente expressas no DC em comparação ao DP. Curiosamente vimos que DC apresentou
348 alterações nas vias associadas ao TCA, ao metabolismo de ácidos graxos e degradação de ácido graxo; com
349 proteínas envolvidas principalmente na beta-oxidação apresentando expressão reduzida no abate em
350 comparação aos 205 dias.

351 Os achados indicam que, em comparação aos 205 d, os animais do DC ao abate tiveram menor
352 atividade de beta-oxidação devido a down-regulation de proteínas associadas a beta-oxidacao. The acetil-
353 CoA aciltransferase 2 (*ACAA2*), proteína relacionada a beta-oxidação mitocondrial, catalisando a última
354 etapa desse processo e desempenhando um papel crucial no metabolismo dos ácidos graxos (Zhang et al.,
355 2018). Proteínas short-chain acyl-CoA dehydrogenase (*ACADS*), medium-chain acyl-CoA dehydrogenase
356 (*ACADM*) e *ACADVL* também associadas à intensificação da beta-oxidação de ácidos graxos de cadeia
357 curta, média e longa, respectivamente (Zhang et al., 2018; Tucci et al., 2012). Além disso, a hidroxiacil-
358 coenzima A desidrogenase (*HADHA* e *HADHB*) codifica, respectivamente, as subunidades alfa e beta da
359 proteína trifuncional mitocondrial (*MTP*), sendo que a *HADHA* é uma enzima chave na oxidação de ácidos
360 graxos, catalisando três etapas do processo de β -oxidação, resultando na liberação de acetil-CoA (Pan et
361 al., 2022). Diante disso, esses achados sugerem que, no momento do abate, o grupo controle apresentou
362 redução na beta-oxidação em comparação aos 205 dias, possivelmente associada a uma maior deposição de
363 IMF (gordura intramuscular) e menor degradação de ácidos graxos no músculo (Zhang et al., 2018).

364 Outro ponto que pode comprovar que os animais do DC no momento do abate estavam em melhor
365 estado energético do que aos 205 d, o achado de proteínas importantes relacionadas ao metabolismo
366 energético de TCA foram down-reguladas ao abate. Dentre elas, a Isocitrate Dehydrogenase (*IDH3A*,
367 *IDH3B*, *IDH3G*) desempenha um papel crucial no metabolismo celular ao catalisar a conversão de isocitrato
368 em α -cetogluturato (He et al., 2022), etapa essencial tanto na via glicolítica quanto no ciclo de Krebs.
369 Adicionalmente, a Malato Desidrogenase 2 (*MDH2*), de localização mitocondrial, catalisa a conversão de
370 malato em oxaloacetato, regenerando NADH para a cadeia respiratória (Zmuda et al., 2024), enquanto a
371 SDHB (Subunidade B da Succinato Desidrogenase) catalisa a conversão de succinato em fumarato
372 (Zoccarato et al., 2009). Em suma, todas essas enzimas são fundamentais para a produção de energia na

373 forma de Adenosine Triphosphate (ATP) na mitocôndria, além de contribuírem para a regulação do
374 equilíbrio redox celular. Quando ocorre um aumento nos níveis de ATP, a atividade dessas enzimas é
375 inibida (Lee et al., 2020), o que se reflete na menor expressão proteica observada. Esses dados indicam que
376 os animais do grupo DC apresentavam uma condição energética superior ao momento do abate, em
377 comparação ao momento 205 dias, evidenciando a inibição das proteínas relacionadas à produção de
378 energia durante o abate.

379

380 **5. Conclusão**

381

382 Em geral, este estudo demonstrou que o desmame precoce aos 120 dias, aliado à suplementação,
383 promoveu alterações significativas no perfil proteômico de bovinos Nelore aos 205 dias, com redução na
384 expressão de proteínas envolvidas na beta-oxidação (*CPT1B*, *ACADVL*, *HADHA*, *HADHB*) e aumento
385 naquelas ligadas à lipogênese (como *FASN*), sugerindo menor demanda energética e maior potencial de
386 crescimento e deposição de gordura intramuscular. Além disso, também aumentou expressão de proteínas
387 associadas ao crescimento muscular (*MYH6*). No entanto, esses efeitos não se sustentaram até o abate,
388 provavelmente devido à redução na intensidade da suplementação durante as fases de recria e terminação.
389 Em conjunto, os resultados evidenciam o potencial do desmame precoce com suplementação como
390 ferramenta para modular o metabolismo energético nas fases tenras da vida e na diminuição dos impactos
391 do estresse da desmama precoce sobre o desenvolvimento.

392

393 **6. Parecer do Supervisor**

394

395 Pela proposta de avaliar o efeito do desmame precoce aliado à suplementação sobre o proteoma do
396 músculo *Longissimus thoracis* (LT) de bovinos Nelore criados em sistema à base de pasto, aos 205 dias
397 de idade e na fase de abate e pelos resultados, discussões e conclusões apresentadas como

398 FAVORÁVEIS a apresentação do referido relatório. Cabe salientar a qualidade da apresentação dos
399 dados bem como das análises realizadas no referido período de pós-doutoramento.

400

401 7. Referência

402

403 Abitante, G.; Silva, R. F.; Souza, J. R.; Oliveira, M. C.; Santos, F. A. Effects of early weaning on performance and
404 carcass quality of Nellore young bulls. *Animals*, v. 14, n. 5, p. 779, 2024.

405 ACADVL acyl-CoA dehydrogenase very long chain. *National Institutes of Health*. Disponível em:
406 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/37#gene-expression>. Acesso em: 06 ago. 2025.

407 Archana, P. R.; Kumar, P. R.; Singh, A. K.; Mishra, A. K.; Singh, D.; Gupta, D. K. Role of heat shock proteins in
408 livestock adaptation to heat stress. *J. Dairy Vet. Anim. Res.*, v. 5, n. 1, p. 00127, 2017.

409 Casals, N.; Serra, D.; Herrero, L.; Fernández-Busquets, X.; Camps, M. Carnitine palmitoyltransferase 1C: From
410 cognition to cancer. *Progress in Lipid Research*, v. 61, p. 134-148, 2016.

411 Chen, Zh.; Guo, J.; Cai, H.; Li, W.; Zhang, W.; Chen, Z.; Wang, Y. 17 β -Hydroxysteroid dehydrogenase type 8 and
412 carbonyl reductase type 4 assemble as a ketoacyl reductase of human mitochondrial FAS. *The FASEB*
413 *Journal*, v. 23, n. 11, p. 3682-3691, 2009.

414 Cooke, R. F.; Daigle, C. L.; Moriel, P.; Smith, S. B.; Tedeschi, L. O.; Vendramini, J. M. B. Cattle adapted to tropical
415 and subtropical environments: social, nutritional, and carcass quality considerations. *Journal of Animal*
416 *Science*, v. 98, 2020. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa014>.

417 Du, M.; Wang, B.; Fu, X.; Yang, Q.; Zhu, M.-J. Fetal programming in meat production. *Meat Science*, v. 109, p. 40–
418 47, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.04.010>

419 Fluharty, F. L.; Loerch, S. C.; Fluharty, S. J.; McCann, M. A. Effects of weaning age and diet on growth and carcass
420 characteristics in steers. *Journal of Animal Science*, v. 78, n. 7, p. 1759-1767, 2000.

421 Golenhofen, N.; Heimann, P.; Schmitt, A.; Bartels, C.; Janssen, K.-P.; Arnold, H.-H.; Faissner, A. Comparison of the
422 small heat shock proteins α B-crystallin, MKBP, HSP25, HSP20, and cvHSP in heart and skeletal muscle.
423 *Histochemistry and Cell Biology*, v. 122, p. 415-425, 2004.

424 He, Q.; Li, Y.; Wang, W.; Liu, Z.; Zhang, J.; Liu, L. Wild-type isocitrate dehydrogenase-dependent oxidative
425 decarboxylation and reductive carboxylation in cancer and their clinical significance. *Cancers*, v. 14, n. 23,
426 p. 5779, 2022.

427 Ingle, D. L.; Bauman, D. E.; Garrigus, U. S. Lipogenesis in the ruminant: in vitro study of tissue sites, carbon source
428 and reducing equivalent generation for fatty acid synthesis. *Journal of Nutrition*, v. 102, p. 609–616, 1972.
429 <https://doi.org/10.1093/jn/102.5.609>

430 Jahn, E.; Chandler, P. T.; Polan, C. E. Effects of fiber and ratio of starch to sugar on performance of ruminating calves.
431 *Journal of Dairy Science*, v. 53, n. 4, p. 466-474, 1970.

432 Jahn, E.; Chandler, P. T.; Kelly, R. F. Nutrient accumulation and prediction of body composition of 20-week-old
433 calves fed varying percentages of protein and fiber. *Journal of Animal Science*, v. 42, n. 3, p. 736-744, 1976.

434 Ladeira, M. M.; Sainz, R. D.; Oliveira, H. N.; Oliveira, H. R.; Drouillard, J. S. Nutrigenomics and beef quality: a
435 review about lipogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 17, n. 6, p. 918, 2016.

436 Lee, J.-H.; Go, Y.; Kim, D.-Y.; Lee, S. H.; Kim, O.-H.; Jeon, Y. H.; Kwon, T. K.; Bae, J.-H.; Song, D.-K.; Rhyu, I. J.
437 Isocitrate dehydrogenase 2 protects mice from high-fat diet-induced metabolic stress by limiting oxidative
438 damage to the mitochondria from brown adipose tissue. *Experimental and Molecular Medicine*, v. 52, p.
439 238–252, 2020. <https://doi.org/10.1038/s12276-020-0379-z>

440 Lee, S.-M.; Kim, S.-Y.; Lim, J.; Park, H. S.; Chung, J. H.; Kim, S. J. FABP3-mediated membrane lipid saturation
441 alters fluidity and induces ER stress in skeletal muscle with aging. *Nature Communications*, v. 11, n. 1, p.
442 5661, 2020.

443 Lemay, D. G.; Hwang, D. H. Genome-wide identification of peroxisome proliferator response elements using
444 integrated computational genomics. *Journal of Lipid Research*, v. 47, p. 1583–1587, 2006.

445 Loy, D.; Maxwell, D.; Rouse, G. Effect of early weaning of beef calves on performance and carcass quality. *Iowa*
446 *State University Animal Industry Report*, v. 1, n. 1, 2000.

447 Lynch, E.; McGee, M.; Earley, B. Weaning management of beef calves with implications for animal health and
448 welfare. *Journal of Applied Animal Research*, 2019.

449 Mattioli, G. A.; Cazarin, C. B. B.; Carciofi, B. A. M.; Diniz, D. C. M.; Benites, C. M. Effects of parenteral
450 supplementation with minerals and vitamins on oxidative stress and humoral immune response of weaning
451 calves. *Animals*, v. 10, n. 8, p. 1298, 2020.

452 Moura, C. S.; Carvalho, G. M.; Abreu, L. R.; Lima, A. L. A.; Silva, L. M. Dietary nutrients and bioactive substances
453 modulate heat shock protein (HSP) expression: a review. *Nutrients*, v. 10, n. 6, p. 683, 2018.

454 Muranova, L. K.; Gusev, N. B.; Baranova, E. V. Cardio-vascular heat shock protein (cvHsp, HspB7), an unusual
455 representative of small heat shock protein family. *Biochemistry (Moscow)*, v. 86, p. S1-S11, 2021.

456 Nakajima, A.; Matsushashi, T.; Hayashi, T.; Kawamura, T.; Tamura, Y.; Hirayama, K.; Kobayashi, E.; Saito, T. A
457 genome-wide association study for fat-related traits computed by image analysis in Japanese Black cattle.
458 *Animal Science Journal*, v. 89, n. 5, p. 743-751, 2018.

459 Nishimura, T. K.; Silva, S. M.; Moreira, E. A.; Oliveira, M. V. M.; Costa, M. J. R.; Dias, F. R.; Filho, J. M. Effects of
460 early weaning on the reproductive performance of suckled Nelore cows in the subsequent breeding season.
461 *Journal of Animal Science*, v. 101, 2023.

462 O'Quinn, T. G.; Brooks, J. C.; Polkinghorne, R. J.; Garmyn, A. J.; Johnson, B. J.; Miller, M. F.; Ramanathan, R.;
463 Legako, J. F.; Savell, J. W. Evaluation of the contribution of tenderness, juiciness, and flavor to the overall
464 consumer beef eating experience. *Translational Animal Science*, v. 2, n. 1, p. 26-36, 2018.

465 Onwukwe, G. U.; Sedelnikova, S. E.; Hudson, G. C.; Perham, R. N. Human $\Delta 3$, $\Delta 2$ -enoyl-CoA isomerase, type 2: a
466 structural enzymology study on the catalytic role of its ACBP domain and helix-10. *The FEBS Journal*, v.
467 282, n. 4, p. 746-768, 2015.

468 Pan, A.; Li, M.; Wang, W.; Liu, Y.; Yang, S.; Ding, L.; Wu, L.; Xu, L.; Li, H.; Liu, Z. The mitochondrial β -oxidation
469 enzyme HADHA restrains hepatic glucagon response by promoting β -hydroxybutyrate production. *Nature*
470 *Communications*, v. 13, n. 1, p. 386, 2022.

471 Ramírez-Zamudio, G. D.; Torres, R. A.; Fernández, M. F.; Morales, L. F.; Moreno, M. A.; Delgado, D. R. Effect of
472 cow-calf supplementation on gene expression, processes, and pathways related to adipogenesis and
473 lipogenesis in longissimus thoracis muscle of F1 Angus \times Nelore cattle at weaning. *Metabolites*, v. 13, n. 2,
474 p. 160, 2023.

475 Rasby, R. Early weaning beef calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, v. 23, n. 1, p. 29-
476 40, 2007.

477 Ritchie, M. E.; Phipson, B.; Wu, D.; Hu, Y.; Law, C. W.; Shi, W.; Smyth, G. K. limma powers differential expression
478 analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Research*, v. 43, p. e47, 2015.

479 Roth, M. T. P.; Souza, R. T.; Fernandes, J. B.; Carvalho, P. G.; Silva, L. S.; Barcellos, J. O. J. Does supplementation
480 during previous phase influence performance during the growing and finishing phase in Nelore cattle?.
481 *Livestock Science*, v. 204, p. 122-128, 2017.

482 Sacarrão-Birrento, L.; Silva, M. G.; Carvalho, J. M.; Oliveira, F. T.; Soares, F. A. The effect of the production system
483 on the proteomics profiles of the Longissimus thoracis muscle in Arouquesa cattle. *Journal of Proteomics*,
484 v. 307, p. 105265, 2024.

485 Shoup, L. M.; Johnson, B. J.; Nagaraja, T. G.; Fluharty, F. L.; McCarty, K. S. Beef cow prepartum supplement level
486 and age at weaning: II. Effects of developmental programming on performance and carcass composition of
487 steer progeny. *Journal of Animal Science*, v. 93, n. 10, p. 4936-4947, 2015.

488 Tucci, S.; Fillipi, J.; Marchi, M.; Napolitano, G.; Coppola, S. Tissue-specific strategies of the very-long chain acyl-
489 CoA dehydrogenase-deficient (VLCAD $^{-/-}$) mouse to compensate a defective fatty acid β -oxidation. *PLoS*
490 *ONE*, 2012, e45429.

491 Wang, X.; Zhang, Z.; Zhang, H.; Li, H.; Liu, Y.; Xu, J.; Zhang, X. Abnormal expression of HADH, an enzyme of
492 fatty acid oxidation, affects tumor development and prognosis. *Molecular Medicine Reports*, v. 26, n. 6, p.
493 355, 2022.

494 Weary, D. M.; Jasper, J.; Hötzel, M. J. Understanding weaning distress. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 110,
495 n. 1-2, p. 24-41, 2008.

496 Zmuda, A. J.; Randle, S. J.; Bunik, V. I.; Weber, A.; Flynn, J.; Saveliev, A. V.; O'Brien, P. J. A universal metabolite
497 repair enzyme removes a strong inhibitor of the TCA cycle. *Nature Communications*, v. 15, n. 1, p. 846,
498 2024.

499 Zhang, Y.; Li, X.; Li, Q.; Wang, H.; Chen, F.; Wang, Y.; Gao, X.; Wang, L. Acetyl-coenzyme A acyltransferase 2
500 promote the differentiation of sheep precursor adipocytes into adipocytes. *Journal of Cellular Biochemistry*,
501 v. 120, n. 5, p. 8021-8031, 2019.

502 Zoccarato, F.; Cavallini, L.; Alexandre, A. Succinate is the controller of O₂-/H₂O₂ release at mitochondrial complex
503 I: negative modulation by malate, positive by cyanide. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, v. 41,
504 p. 387-393, 2009.

Tabela 1. Composição dos ingredientes das fases de adaptação, crescimento e terminação

Fases	Tratamentos	
	Desmama Precoce	Desmama convencional
Nascimento a 120 d	Bezerros com as mães em <i>Panicum maximum</i> (<i>Coloniao cv.</i>)	
Fase: 120 a 205 d	<i>Panicum maximum</i> (<i>Coloniao cv.</i>) + suplementação ¹ (20% PB; 78% NDT) 10g de MS/kg PC	Bezerros com as mães em <i>Panicum maximum</i> (<i>cv. Coloniao</i>)
Fase de recria 205 a 693 d	<i>Urochloa Ippora</i> + suplementação ² (22% PB; 71% NDT) 3g de MS/kg PC	
Fase terminação: 693 a 915 d	<i>Urochloa Ippora</i> + suplementação ² (22% PB; 71% NDT) 5g de MS/kg PC	

¹ Sódio 3,75 g/kg; Cálcio 25 g/kg; Fósforo 5000 mg/kg; Enxofre 1500 mg/kg; Zinco 188 mg/kg; Cobre 67 mg/kg; Manganês 65 mg/kg; Iodo 5,2 mg/kg; Cobalto 3,75 mg/kg; Selênio 0,85 mg/kg; Magnésio 1000 mg/kg; Ferro 12,3 mg/kg; Cromo 0,5 mg/kg; Salinomicina 100 mg/kg; *Saccharomyces cerevisiae* 3×10⁸ UFC/kg.

² Sódio 7,8 g/kg; Cálcio 25 g/kg; Fósforo 4900 mg/kg; Enxofre 1290 mg/kg; Zinco 188 mg/kg; Cobre 67 mg/kg; Manganês 65 mg/kg; Iodo 5,2 mg/kg; Cobalto 3,75 mg/kg; Selênio 0,85 mg/kg; Magnésio 1000 mg/kg; Ferro 35,7 mg/kg; Cromo 1,43 mg/kg; Salinomicina 73 mg/kg; *Saccharomyces cerevisiae* 8,5×10⁸ UFC/kg.

Tabela 2. Desempenho e característica de carcaça de bovinos nelore submetidos a desmama precoce e convencional.

Itens	Tratamentos		P-valor
	Precoce ¹	Convencional ²	
		Recria	
PC (693 d), kg ³	474.94 ± 32.23	459.05 ± 29.37	0.147
GMD (205 - 690 d), kg /d ⁴	0.592 ± 0.048	0.552 ± 0.044	0.009
		Terminação	
PC final (915 d), kg	619.05 ± 44.14	602.94 ± 42.01	0.321
GMD (690 – 915), kg /d	0.686 ± 0.096	0.685 ± 0.107	0.874
		Geral	
Ganho peso (205 – 915 d), kg	0.583 ± 0.050	0.545 ± 0.050	0.871
GMD (205 - 915 d), kg	0.616 ± 0.045	0.588 ± 0.047	0.065
PCQ ³ , kg	337.94 ± 21.16	324.23 ± 22.69	0.117
EGS ⁴ , mm	2.94 ± 1.63	2.97 ± 1.31	0.918
AOL ⁵ area, cm ²	79.05 ± 6.20	75.73 ± 7.38	0.162
Gordura intramuscular, %	1.713 ± 0.47	1.907 ± 0.56	0.256

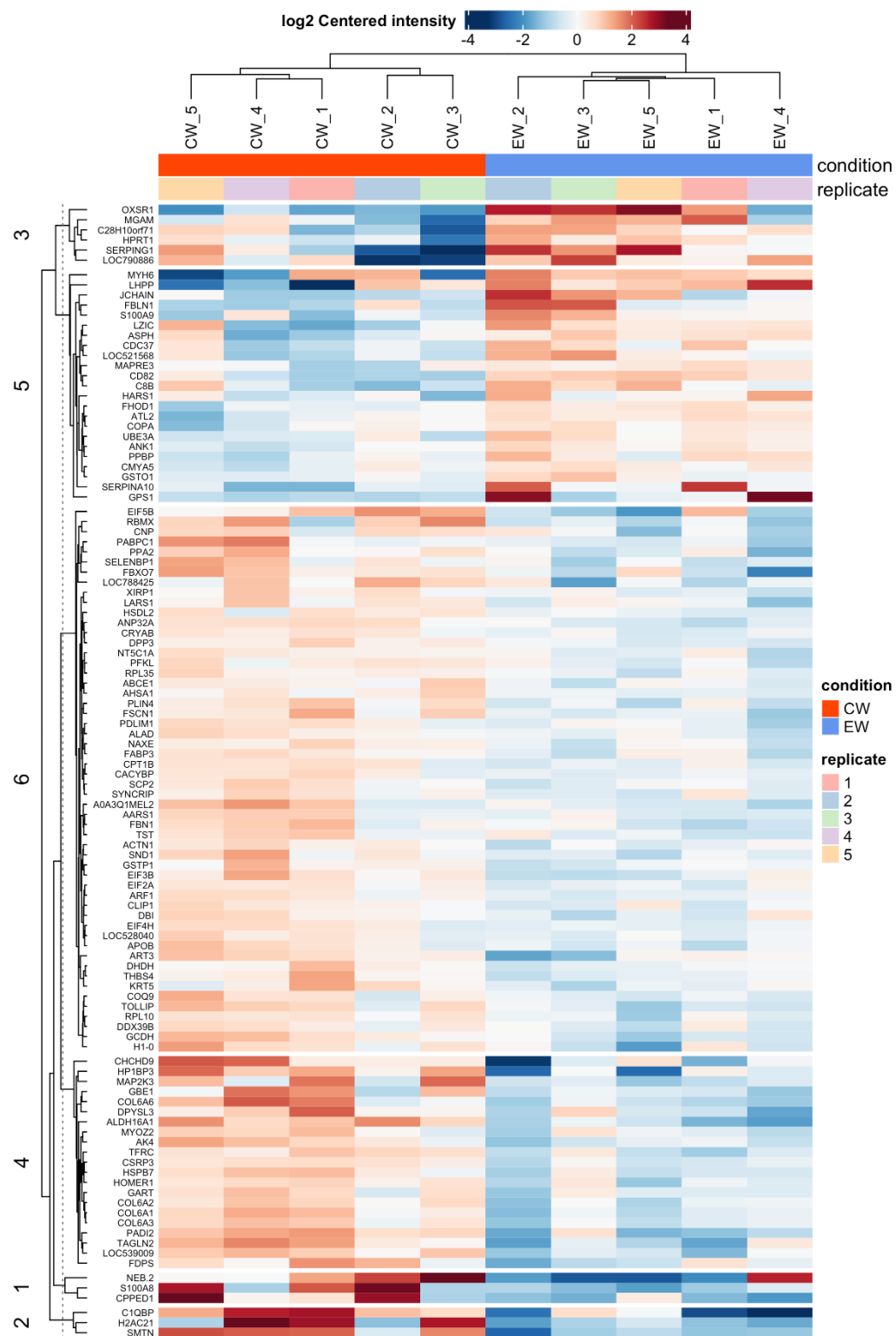
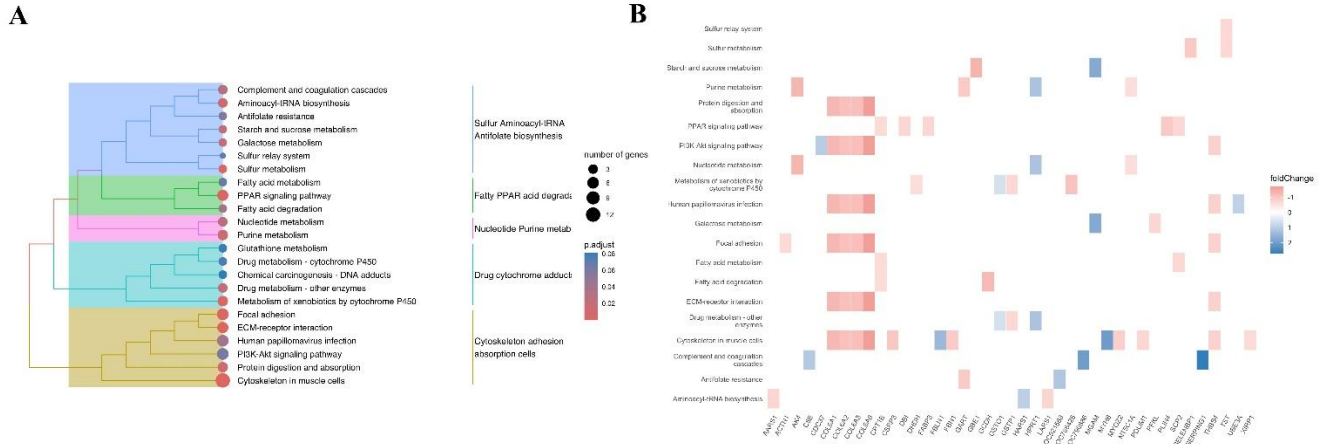


Figura 2. Mapa de calor obtido para os dados normalizados das proteínas com abundância diferencial identificadas no músculo *Longissimus thoracis* de bezerras Nelore submetidos ao desmame precoce (DP-120 dias) vs. desmame convencional (DC-205 dias) aos 205 dias

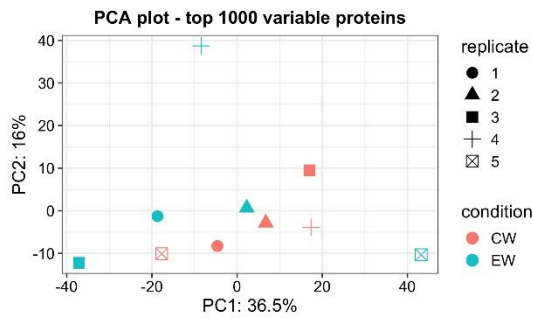


1

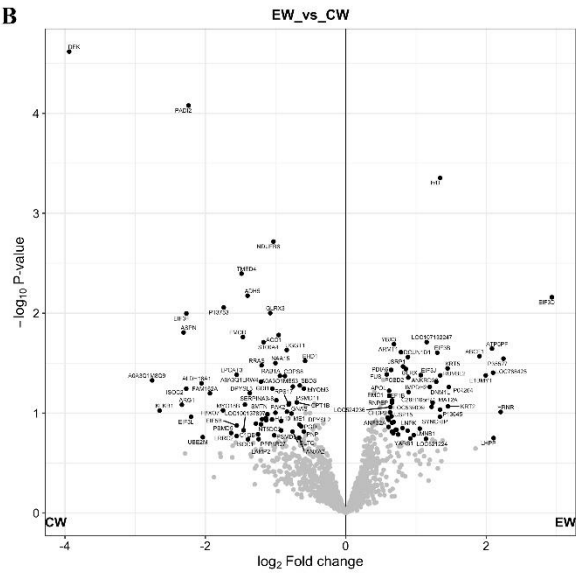
2 **Figure 3.** (A-B) Vias metabólicas KEGG enriquecidas para as 255 proteínas diferencialmente
 3 expressas no músculo *Longissimus thoracis* de bezerros Nelore submetidos ao desmame precoce (DP-
 4 120 dias) vs. desmame convencional (DC-205 dias) aos 205 dias.

5

A



B

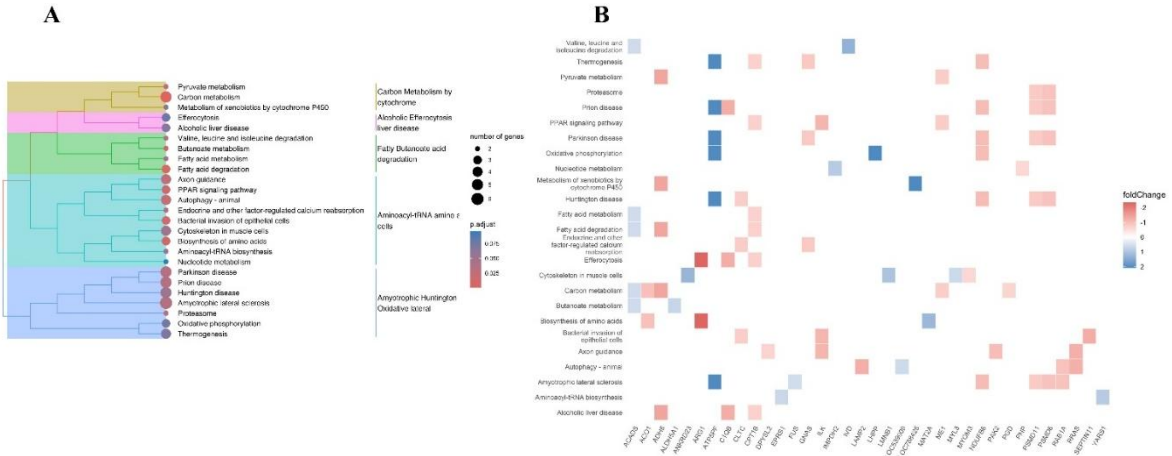


6

7 **Figure 4.** Análise de componentes principais (PC) e gráfico vulcão das diferenças na expressão
 8 proteica do músculo *Longissimus thoracis* de bezerras Nelore submetidos ao desmame precoce (DP-
 9 120 dias) vs. desmame convencional (DC-205 dias) no abate.

10

11

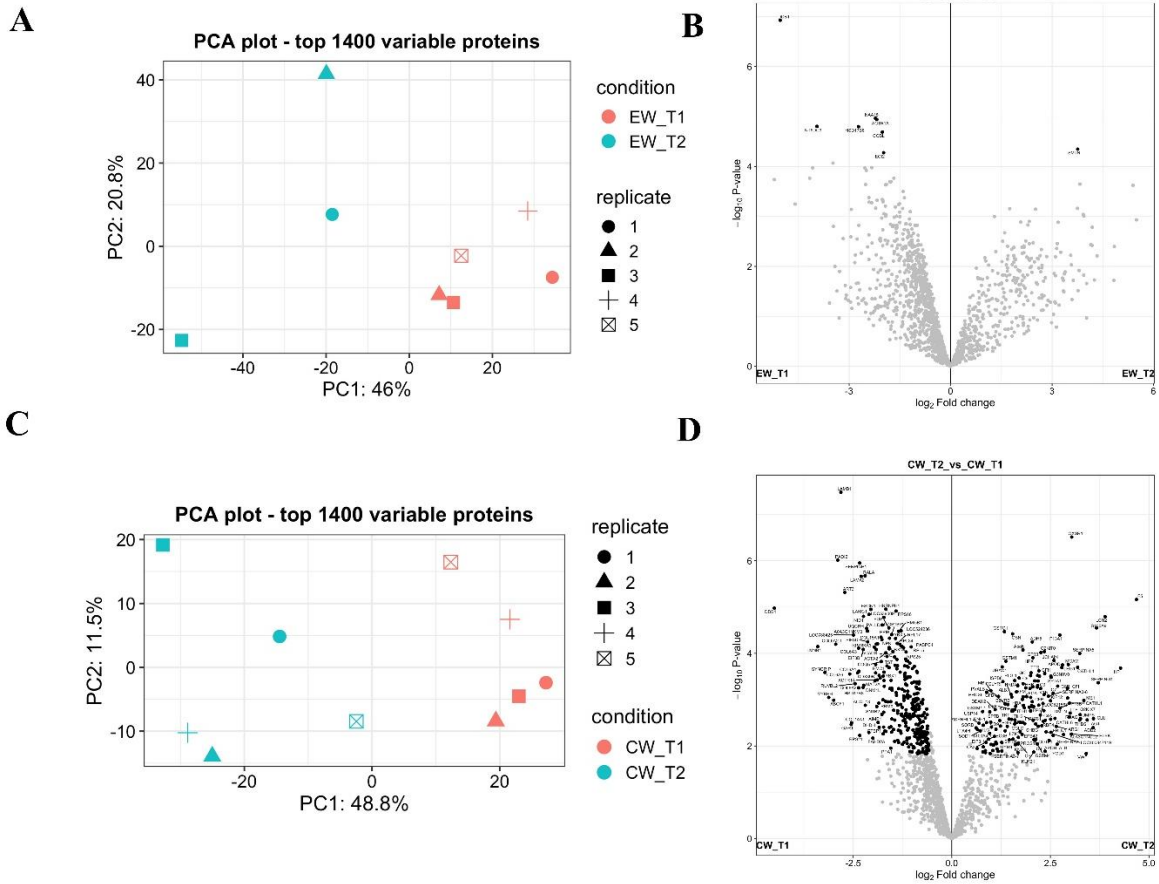


18

19

20 **Figura 6.** (A-B) Vias metabólicas KEGG enriquecidas a partir das proteínas diferencialmente
 21 expressas no músculo *Longissimus thoracis* de bezerros Nelore submetidos ao desmame precoce (DP-
 22 120 dias) vs. desmame convencional (DC-205 dias) no abate.

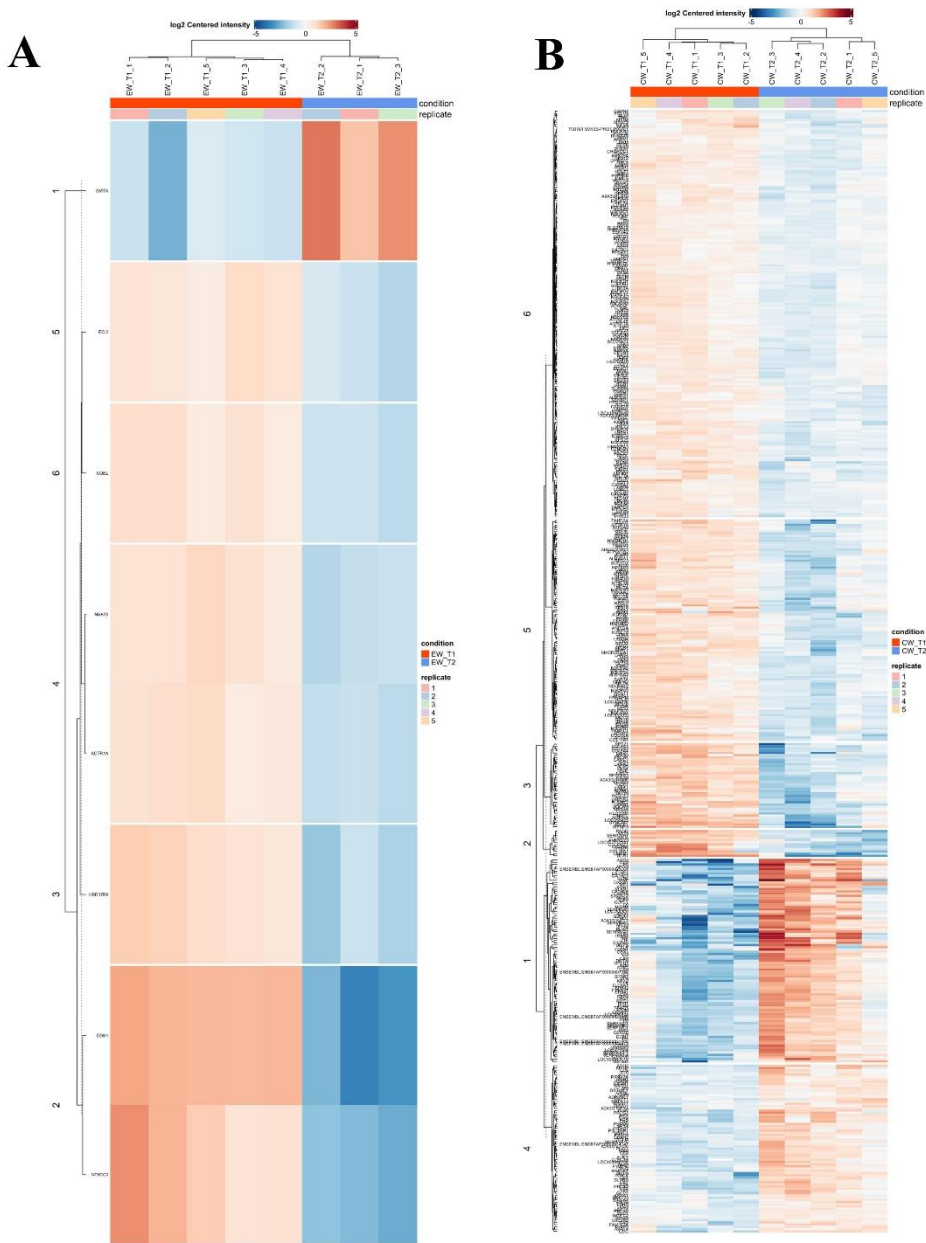
23



24

25 **Figure 7.** (A) Principal component (PC) analysis and (B) volcano plot of protein expression
 26 differences in *Longissimus thoracis* of Nellore calves submitted to early weaning (DP-120 d) at 205
 27 d vs. slaughter; (C) Principal component (PC) analysis and (D) volcano plot of protein expression
 28 differences in *Longissimus thoracis* of Nellore calves submitted conventional weaning (DC-205 d) at
 29 205 d vs. slaughter.

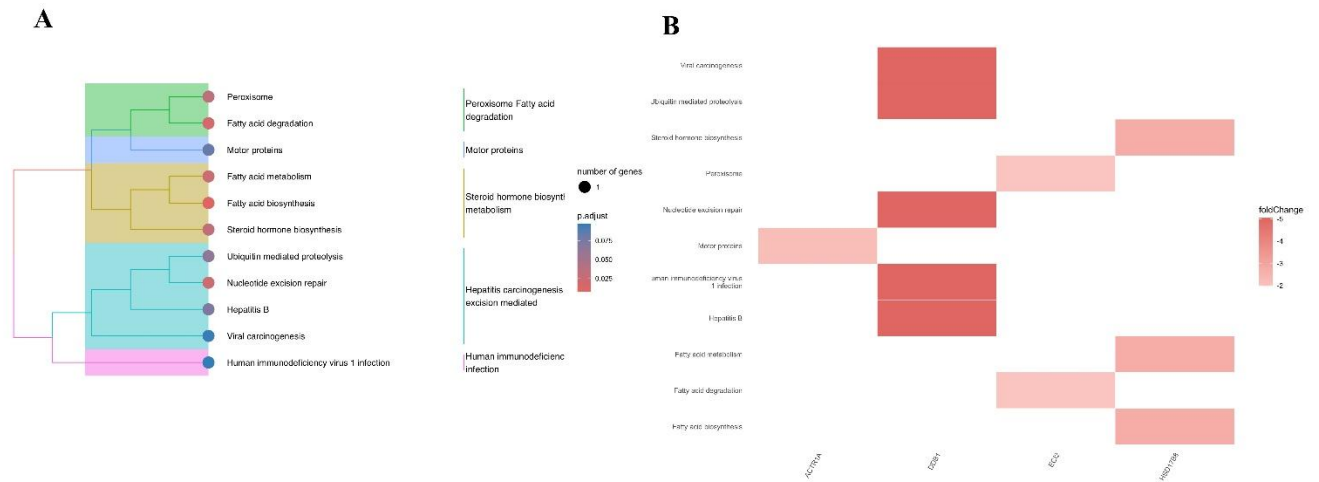
30



32

33 **Figura 8.** (A) Mapa de calor obtido a partir dos dados normalizados das proteínas com abundância
 34 diferencial identificadas no músculo *Longissimus thoracis* de bezerros Nelore submetidos ao
 35 desmame precoce (DP-120 dias) aos 205 dias vs. abate; (B) Mapa de calor obtido a partir dos dados
 36 normalizados das proteínas com abundância diferencial identificadas no músculo *Longissimus*
 37 *thoracis* de bezerros Nelore submetidos ao desmame convencional (DC-205 dias) aos 205 dias vs.
 38 abate.

39



40

41 **Figura 9.** (A-B) Vias metabólicas KEGG enriquecidas a partir das proteínas diferencialmente
 42 expressas no músculo *Longissimus thoracis* de bezerras Nelore submetidos ao desmame precoce (DP-
 43 120 dias) aos 205 dias vs. abate.

44

45

