UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

LEYDIANA DUARTE FONSECA

Caracterização proteômica do fígado de bovinos Nelore divergentes para eficiência alimentar

Pirassununga 2018

LEYDIANA DUARTE FONSECA

Caracterização proteômica do fígado de bovinos Nelore divergentes para eficiência alimentar

Versão corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutora em Ciências do programa de pósgraduação em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Joanir Pereira Eler Co-orientador: Prof. Dr. Heidge Fukumasu

Pirassununga 2018

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Fonseca, Leydiana Duarte Caracterização proteômica do fígado de bovinos Nelore divergentes para eficiência alimentar / Leydiana Duarte Fonseca ; orientador Joanir Pereira Eler ; coorientador Heidge Fukumasu. --Pirassununga, 2018. 109 f. Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) -- Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo. 1. consumo alimentar residual. 2. consumo e ganho residual. 3. bovinos de corte. 4. proteoma. 5. proteínas hepáticas. I. Eler, Joanir Pereira, orient. II. Fukumasu, Heidge, coorient. III. Título.

Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte - o autor

LEYDIANA DUARTE FONSECA

Caracterização proteômica do fígado de bovinos Nelore divergentes para eficiência alimentar

Tese apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutora em Ciências.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Data de aprovação: 16/10/2018

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Joanir Pereira Eler - Orientador Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo

Prof. Dr. José Bento Sterman Ferraz

Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Luciana Correia de Almeida Regitano

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa Pecuária Sudeste

Prof. Dr. Luiz Lehmann Coutinho

Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Saulo da Luz e Silva

Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meu Deus por me mostrar que sempre há um caminho e me levantar mais forte a cada queda!

À minha família pelo amor incondicional e por estarem sempre ao meu lado e ao Daniel pela compreensão e apoio!

Agradeço ao professor Dr. Joanir pela orientação e confiança, ao professor Dr. Heidge pela co-orientação e à Dra. Alessandra pela orientação não-oficial e amizade.

À Mikaele por toda ajuda ao longo de todos esses anos de doutorado e pela amizade! À Cris, Mirele e Bárbara pela companhia e conhecimentos compartilhados. À Pâmela pelo auxílio.

Agradeço à Dra. Fernanda Salvato pelos ensinamentos em proteômica e ao professor Dr. Giuseppe Palmisano pelo auxílio nas análises de espectrometria de massas.

Agradeço à equipe do Laboratório Nacional de Biociências (LNBio) do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), Campinas-SP, pela realização das análises de espectrometria de massas.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Código de Financiamento 001 pela bolsa de doutorado concedida nos primeiros três meses de curso e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de doutorado a mim concedida no período subsequente (processo nº 2014/04937-0) e pelos demais financiamentos (processos 2014/12492-8, 2014/07566-2, 2014/02493-7, 2018/09853-0). Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, 303659/2014-9).

Agradeço a Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo pela estrutura disponibilizada.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste projeto.

RESUMO

FONSECA, L. D. Caracterização proteômica do fígado de bovinos Nelore divergentes para eficiência alimentar. 2018. 109 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

A alimentação é um dos custos mais relevantes da produção de bovinos de corte e melhorar a eficiência na utilização de nutrientes é essencial para a viabilidade da produção, dado o atual cenário de crescente demanda por proteína animal e mercado altamente competitivo. Nesse contexto, a proteômica surge como uma importante ferramenta na busca por alternativas que aumentem a eficiência alimentar (EA) de bovinos de corte. Assim, o objetivo deste trabalho é caracterizar o proteoma hepático de bovinos Nelore classificados guanto à EA. Noventa e oito animais foram avaliados em projeto anterior e seis indivíduos de baixa (BEA) e alta eficiência (AEA) tiveram amostras de fígado coletadas no abate, congeladas em Nitrogênio líquido e armazenadas em freezer à -80 °C. Após a extração e precipitação das proteínas, as amostras foram processadas por duas abordagens distintas: digeridas com tripsina em solução e analisadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência acoplado ao espectrômetro de massas (LC-MS/MS); e previamente separadas em gel para posterior digestão e análise (GeLC-MS/MS). Os dados adquiridos por LC-MS/MS foram analisados com o programa MaxQuant contra os bancos de Bos taurus e Bos indicus do Uniprot para identificação das proteínas, e os resultados analisados com o programa Perseus. Os dados obtidos por GeLC-MS/MS foram analisados com os programas Mascot Distiller e X! Tandem e validados no Scaffold Q+ contra o banco Bos taurus do Uniprot e os resultados analisados com os programas Scaffold Q+ e Perseus. Para abordagem LC-MS/MS, 376 proteínas foram quantificadas e submetidas à análise de abundância diferencial e construção de redes de coexpressão pelo WGCNA, identificando 42 proteínas diferencialmente abundantes (PDAs, p < 0,05) e três módulos significativamente associados à EA. Pela abordagem GeLC-MS/MS foram quantificadas 102 proteínas, das quais cinco foram PDAs (p-valor < 0,05). Três PDAs foram comuns às duas abordagens proteômicas. As proteínas associadas negativamente à EA foram principalmente relacionadas à síntese lipídica, degradação de ácidos graxos, enzimas do sistema do citocromo P450 e processos oxidativos. Por outro lado, as proteínas positivamente relacionadas à EA, foram principalmente envolvidas em processamento e enovelamento de proteínas, além de proteínas atuantes na manutenção da integridade e restauração do citoesqueleto celular. Em ambos os grupos também foram identificadas proteínas que atuam no sistema imunológico e resposta inflamatória. Estes resultados comprovam experimentos anteriores do grupo e demonstram a existência de diferença entre os proteomas do fígado de animais eficientes e ineficientes.

Palavras-chave: consumo alimentar residual, consumo e ganho residual, bovinos de corte, proteoma, proteínas hepáticas.

ABSTRACT

FONSECA, L. D. Proteomic characterization of the liver of Nellore cattle divergent for feed efficiency. 2018. 109 f. Thesis (PhD) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

Feeding is one of the most relevant cost of beef cattle production and improving nutrient utilization efficiency is essential for the viability of production, given the current scenario of increasing demand for animal protein and highly competitive market. In this context, proteomics appears as an important tool in the search for alternatives that increase the feed efficiency (FE) of beef cattle. Thus, the aim of this work is to characterize the hepatic proteome of beef cattle selected for divergent FE. Ninety-eight animals were evaluated in a previous project, and six individuals with low feed efficiency (LFE) and six with high feed efficiency (HFE) had liver samples collected at slaughter, frozen in liquid Nitrogen and stored in a freezer at -80 °C. After protein extraction and precipitation, the samples were processed by two different approaches: digested with trypsin in solution and analyzed in a high efficiency liquid chromatograph coupled to the mass spectrometer (LC-MS/MS); and previously separated in gel for further digestion and analysis (GeLC-MS/MS). Data acquired by LC-MS/MS were analyzed with MaxQuant software against the Bos taurus and Bos indicus Uniprot databases for proteins identification and the results analyzed with Perseus software. The data obtained by GeLC-MS/MS were analyzed with the softwares Mascot Distiller and X! Tandem and validated in the Scaffold Q+, against Bos taurus Uniprot database and results analyzed with the softwares Scaffold Q+ and Perseus. For the LC-MS/MS approach, 376 proteins were quantified and submitted to differential abundance analysis and co-expression networks by WGCNA, identifying 42 differentially abundant proteins (DAPs, p < 0.05) and three modules significantly associated with FE. For the GeLC-MS/MS approach, 102 proteins were quantified, of which five were DAPs (pvalue < 0.05). Three DAPs were common to both proteomics approaches. Proteins negatively associated with FE were mainly related to lipid synthesis, degradation of fatty acids, cytochrome P450 system enzymes and oxidative processes. On the other hand, proteins positively related to FE were mainly involved in protein processing and folding, maintenance of the integrity and restoration of the cellular cytoskeleton. In both groups were also identified proteins that play a role on the immune system and inflammatory response. These results prove previous experiments of the group and demonstrate the existence of difference between liver proteomes of efficient and inefficient animals.

Keywords: residual feed intake, residual intake and body weight gain, beef cattle, proteome, hepatic proteins.

LISTA DE FIGURAS

Figura 4 - Imagem do gel obtido por 1D-SDS-PAGE das proteínas extraídas do fígado de bovinos Nelore classificados quanto à eficiência alimentar.......41

Figura 5 - Correlações de Pearson entre os valores de quantificação relativa das proteínas identificadas nas amostras de fígado de bovinos Nelore de alta (AEA) e baixa eficiência alimentar (BEA) pela abordagem GeLC-MS/MS......42

Figura 8 - Dendrograma representando agrupamento hierárquico não supervisionado das proteínas diferencialmente abundantes entre amostras de fígado de bovinos Nelore classificados como alta (AEA) e baixa eficiência alimentar (BEA)......47

Figura 12 - Termos enriquecidos (p < 0,05, corrigido pelo método de Bonferroni) de componentes celulares após síntese semântica pelo Revigo das proteínas hepáticas diferencialmente abundantes entre bovinos Nelore de alta e baixa eficiência alimentar.

Figura 18 - Conectividade das proteínas hepáticas de bovinos Nelore co-expressas no módulo vermelho, significativamente correlacionado à eficiência alimentar.......60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Proteínas mais abundantes nas amostras de fígado de bovinos Nelore classificados como baixa eficiência alimentar, considerando p-valor < 0,05, identificadas pela abordagem LC-MS/MS.45 Tabela 2 - Proteínas menos abundantes nas amostras de fígado de bovinos Nelore classificados como baixa eficiência alimentar, considerando p-valor < 0,05, identificadas pela abordagem LC-MS/MS.46 Tabela 3 - Proteínas diferencialmente abundantes nas amostras de fígado de bovinos Nelore classificados como baixa e alta eficiência alimentar, considerando p-valor < Tabela 4 - Vias metabólicas significativamente enriquecidas (p-ajust < 0,05) das proteínas hepáticas diferencialmente abundantes entre bovinos Nelore de alta e baixa eficiência alimentar......53 Tabela 5 - Vias metabólicas significativamente enriquecidas (p-ajust < 0, 05) das Tabela 6 - Vias metabólicas significativamente enriquecidas (p-ajust < 0,05) das proteínas hepáticas de bovinos Nelore co-expressas no módulo vermelho......61 Tabela 7 - Vias metabólicas significativamente enriquecidas (p-ajust < 0,05) das

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	.11
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	.13
2.1.	Produção de bovinos de corte	.13
2.2.	Eficiência alimentar	.14
2.3.	Análises proteômicas	.19
2.4.	Abordagem proteômica na produção animal	.21
3.	OBJETIVOS	.25
3.1.	Objetivo geral	.25
3.2.	Objetivos específicos	.25
4.	MATERIAL E MÉTODOS	.26
4.1.	Obtenção das amostras	.26
4.2.	Análises proteômicas	.27
4.2.	1 Extração, precipitação e quantificação das proteínas	.27
4.	2.2. Processamento das amostras para análise LC-MS/MS	.28
4.	2.3. Processamento das amostras para análise GeLC-MS/MS	.29
4.3.	Análises estatísticas	.32
4.	3.1. Dados obtidos por LC-MS/MS	.32
4.	3.2. Dados obtidos por GeLC-MS/MS	.33
4.4.	Análises de Bioinformática	.34
4.	4.1. Interação proteína-proteína	.34
4.	4.2. Enriquecimento funcional	.35
4.5.	Redes de co-expressão e enriquecimento de vias metabólicas dos módulos	
sign	ificativos	.35
5.	RESULTADOS	.37
5.1.	Caracterização proteômica do fígado de bovinos Nelore	.37
5.	1.1. Abordagem LC-MS/MS	.37
5.	1.2. Abordagem GeLC-MS/MS	.40
5.2.	Análise proteômica diferencial	.44
5.	2.1. Abordagem LC-MS/MS	.44
5.	2.2. Abordagem GeLC-MS/MS	.47
5.3.	Interação entre as proteínas diferencialmente abundantes	.48

5.4. Enriquecimento funcional para proteínas diferencialmente abundantes .	50
5.5. Redes de co-expressão por WGCNA	54
6. DISCUSSÃO	64
CONCLUSÃO	77
REFERÊNCIAS	78
APÊNDICES	96

1. INTRODUÇÃO

Em todo o mundo, a bovinocultura de corte tem passado por modificações cujo foco tem sido em torno do crescimento da população mundial com consequente aumento na demanda por alimentos de origem animal. Ao mesmo tempo, percebe-se também uma crescente conscientização da necessidade de se promover a sustentabilidade socioeconômica e ambiental de todas as atividades produtivas, sendo a pecuária bovina de corte frequentemente apontada como importante geradora de impactos ambientais. Assim, a pecuária de corte se vê frente ao desafio de intensificar a produção sem se esquecer de que se trata de uma atividade que requer maior demanda de energia, água e terra para produzir, comparada a outras criações. Desta forma, pesquisas focadas no potencial genético do rebanho e sua adequação ao ambiente e manejo são de grande relevância para obtenção de maior eficiência e sustentabilidade.

Por causa dos avanços já conquistados pela troca de conhecimento entre o meio acadêmico e os produtores, que tem aperfeiçoado as técnicas de produção utilizadas comumente, bem como auxiliado na busca por novas estratégias, tanto alternativas como complementares, o Brasil apresenta potencial para assumir a posição de maior produtor, bem como manter o título de maior exportador de carne bovina. Esse intercâmbio de informações tem gerado soluções que aceleram o processo produtivo, permitindo a obtenção de uma carne de qualidade, que atenda as exigências do consumidor consciente e a crescente demanda por alimentos de grande valor nutritivo e com responsabilidade ambiental e social, garantindo o desenvolvimento da cadeia produtiva da carne bovina.

Entretanto, ainda há muito a ser feito para aumentar a produtividade dos rebanhos nacionais. Na produção de bovinos de corte, a alimentação é um dos componentes que mais oneram o custo total. Além disso, a intensa demanda por terras para produção de pastagens e de grãos compete com áreas que poderiam ser destinadas à produção de alimentos para consumo humano, o que também se torna alvo de críticas à pecuária. Assim, a melhoria na eficiência de utilização do alimento é imprescindível não apenas para manter a viabilidade da produção, mas para torná-la ainda mais competitiva e ambientalmente responsável. Neste contexto, associada às informações do melhoramento clássico, a proteômica surge como importante

ferramenta para auxiliar no entendimento dos mecanismos biológicos que atuam para determinação da eficiência alimentar. A identificação de proteínas que estejam associadas às vias e processos envolvidos neste fenótipo direcionará a busca por biomarcadores, o que representaria grande avanço na pecuária, elaborando estratégias nutricionais adequadas e, consequentemente, minimizando os custos com alimentação nos confinamentos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Produção de bovinos de corte

No Brasil, apesar da crise econômica da década de 1980, o destaque da agropecuária que se iniciou a partir de meados da década de 1970 prosseguiu, sendo um dos setores de maior crescimento na economia brasileira. A partir desse período e, principalmente, na década de 1990, a inovação tecnológica e a reestruturação das relações de comércio exterior, dentre outros fatores, modificaram as formas de concorrência o que, em conjunto, promoveu ainda mais desenvolvimento (CARRER et al., 2007). Atualmente, o Brasil é um dos principais países envolvidos na produção e comércio de carne bovina mundial. De acordo com o relatório bianual Livestock and Poultry: world markets and trade publicado em abril deste ano pelo United States Department of Agriculture (USDA, 2018), além de manter o maior rebanho bovino comercial do mundo, o país é o segundo maior produtor de carne bovina, atingindo 9,9 milhões de toneladas, e o maior exportador mundial. Em 2017 os países Hong Kong, China e Rússia foram os principais destinos da produção nacional, respondendo por mais de 53% do total comercializado no exterior, de acordo com dados fornecidos pelos arquivos da balança comercial da Secretaria de Comércio Exterior (Secex) do Ministério da Industria, Comércio Exterior e Serviços (MDIC, 2018). Contudo, a maior parte da produção ainda é direcionada para consumo interno, aproximadamente 80%. Assim, com uma produção mais competitiva, apresenta potencial para se manter nesta posição.

Mais recentemente, mesmo após a crise motivada pelo escândalo envolvendo a indústria da carne brasileira, no início de 2017, onde vários importadores impuseram restrições temporárias ao produto nacional, o ano de 2017 apresentou 3,8% de aumento no número de animais abatidos em relação ao ano de 2016, conforme a Pesquisa trimestral do abate de animais realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2018), enquanto que as exportações da carne bovina (congelada, resfriada ou fresca) superaram em 16,69% o ano anterior e a exportação de animais vivos tiveram mais de 32% de aumento (Secex/MDIC, 2018). Dados preliminares para o ano de 2018 também informam um aumento de 4,4% no número de bovinos abatidos no primeiro trimestre em comparação com o mesmo período de 2017 (IBGE, 2018) e, no primeiro semestre de 2018, as exportações de carne bovina superaram em 3,05% o primeiro semestre de 2017 e corresponderam a 1,97% do total de produtos exportado pelo país, gerando um montante de quase 2,24 bilhões de dólares (Secex/MDIC, 2018).

De acordo com dados publicados no relatório anual da Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne (ABIEC, 2018), em 2017 foram abatidos 39,2 milhões de bovinos no país, dos quais apenas 10,44% corresponderam a animais confinados. Confirmando que a produção de carne no país ainda ocorre essencialmente em sistema extensivo que, apesar de avanços nas últimas décadas, ainda são caracterizados por baixa especialização e baixo investimento, levando a baixos índices produtivos. Além disso, aproximadamente 80% das pastagens cultivadas no Brasil Central, responsáveis por mais de 55% da produção nacional de carne, estão em algum estágio de degradação (BALBINO et al., 2012).

O aumento da eficiência produtiva por sua vez, promove redução do impacto ambiental da pecuária de corte em decorrência do efeito de diluição da mantença (CAPPER, 2011). Neste sentido, o aumento da eficiência alimentar torna-se de grande relevância para manter a viabilidade da criação, auxiliando na diminuição de custos, pela redução na quantidade de alimento consumido para cada quilo de carne produzido. Além disso, apresenta importância direta quando se trata da sustentabilidade dos recursos naturais na produção, já que com animais mais eficientes na utilização de nutrientes da dieta é previsto redução nas áreas de pastagens e produção de poluentes ambientais como esterco e gases de efeito estufa, principalmente o metano (BASARAB et al., 2003), considerando a emissão por quilo de carne produzida.

2.2. Eficiência alimentar

Os custos com alimentação podem ultrapassar 60% do total da produção em função do sistema de criação adotado (ANDERSON et al., 2005). Na produção animal o conceito de eficiência é utilizado para definir variações em ganho de peso em função da ingestão de alimentos. Contudo, a eficiência de aproveitamento dos nutrientes fornecidos pelos alimentos varia devido à diversos fatores dentre os quais quantidade e tipo de alimento ingerido, sexo, raça, bem como condições ambientais (HERD;

ODDY; RICHARDSON, 2004). O aproveitamento do alimento ingerido pelo animal envolve processos biológicos complexos e interações com o ambiente, sendo o consumo altamente correlacionado com tamanho corporal e nível de produção (ARTHUR; HERD, 2008). Porém, apesar dessa complexidade, diversos parâmetros têm sido utilizados. Nas últimas décadas, alguns indicadores para mensurar a eficiência alimentar em bovinos de corte foram desenvolvidos e utilizados em programas de melhoramento para auxiliar na seleção dos animais mais vantajosos para a criação.

As medidas mais utilizadas para bovinos de corte até alguns anos foram a taxa de conversão alimentar (CA), que é a razão entre a ingestão de matéria seca (IMS) diária observada e o ganho de peso médio diário (GMD) (I:G), e o seu inverso, a eficiência alimentar bruta (EA), que é a razão entre GMD e IMS (G:I) (ARCHER et al., 1999). Tanto a CA como a EA bruta possuem herdabilidade de baixa à moderada (ARTHUR; RENAND; KRAUSS, 2001; BERRY; CROWLEY, 2012; CEACERO et al., 2016; CROWLEY et al., 2010; GRION et al., 2014; OLIVIERI et al., 2016; SANTANA et al., 2014a; SCHENKEL; MILLER; WILTON, 2004). Entretanto, estes indicadores apresentam correlações significativas com peso vivo corporal (PV) e GMD, sendo que a seleção para estas medidas pode culminar em maior tamanho de fêmeas adultas, que terão incremento no requerimento nutricional de mantença (CROWLEY et al., 2011; HERD; BISHOP, 2000; SANTANA et al., 2012). Outras medidas existentes são a taxa de crescimento relativo, que é a razão da diferença do logaritmo do peso final e do logaritmo do peso inicial pelo tempo em confinamento; a eficiência parcial de crescimento, definida como a razão do GMD pela diferença do CMS observado e do CMS estimado para mantença; taxa de Kleiber, que é o ganho de peso por unidade de peso vivo metabólico (PV^{0,75}) (ARTHUR, HERD et al., 2008).

Outro indicador que tem se destacado e tem sido amplamente difundido para identificar animais mais eficientes no aproveitamento de nutrientes é o consumo alimentar residual (CAR). O CAR foi inicialmente utilizado por Koch et al. (1963), que sugeriram uma correção do consumo alimentar para o peso do animal e para o ganho em peso. Este indicador é definido como a diferença do consumo observado e do consumo estimado baseado na regressão do consumo em PV^{0,75} médio e do GMD durante o período de avaliação, sendo valor negativo o desejável para este indicador. Ou seja, animais mais eficientes apresentam CAR negativo (ARTHUR et al., 2001;

ARTHUR; HERD, 2008) e, de acordo com Berry e Crowley et al. (2013), com base em uma análise combinada de várias herdabilidades obtidas de dados da literatura, o CAR é moderadamente herdável.

Sua principal vantagem consiste na possibilidade de comparação da IMS entre animais, independente das diferenças de tamanho ou da taxa de crescimento, já que não possui correlação com PV e GMD (ARTHUR et al., 20010; ARTHUR; HERD, 2008; GRION et al., 2014, SANTANA et al., 2012). Assim, conforme destacado por Arthur e Herd (2008) em revisão sobre este indicador, esta independência das características de produção utilizadas em seu cálculo sugere que o CAR possa representar a variação inerente aos processos metabólicos que determinam a eficiência. Para que o CAR fosse aplicável nas análises genéticas foi necessário desenvolver protocolos padronizados, permitindo a comparação entre animais de grupos de contemporâneos distintos, onde os fatores que afetam o consumo e sua utilização são controlados ao máximo possível, como idade ao início das medições, sexo, composição da dieta e procedimentos adotados (ARTHUR; HERD, 2008).

Crowley et al. (2010) avaliaram outra característica proposta por Koch et al. (1963), o ganho de peso residual (GPR), que é definido como a quantidade de peso que um animal ganha acima ou abaixo da estimativa de ganho de peso baseada na ingestão de matéria seca e no seu peso vivo médio, sendo baseado na regressão do GMD no $PV^{0,75}$ e IMS durante o período de teste, sendo que, ao contrário do CAR, valores positivos de GPR são desejáveis. Desta forma, aumento no GPR está associado a taxas de crescimento mais rápidas, porém sem diferenças no consumo alimentar (BERRY, CROWLEY, et al., 2012). Assim como o CAR, o GPR também é fenotipicamente independente de seus regressores (BERRY; CROWLEY, 2013). As herdabilidades para GPR variam de 0,13 ± 0,07 a 0,406 ± 0,147 (CROWLEY et al., 2010; GRION et al., 2014; SANTANA et al., 2014a).

Por sua vez, Berry e Crowley (2012) apresentaram outro indicador de eficiência alimentar, o consumo e ganho residual (CGR), para ser utilizado em bovinos em crescimento. Esta característica é expressa como a soma do CAR com o GPR, onde cada um tem a mesma ponderação após transformação do CAR positivo em favorável pela multiplicação por menos um. O principal objetivo desse indicador é permitir identificar os animais de crescimento rápido e que consumam menos alimento que o esperado, proporcionalmente, sem diferenças no peso vivo do animal. Assim, animais

eficientes quanto ao CGR consomem menos matéria seca e possuem maior ganho de peso. O CGR é uma característica moderadamente herdável, sendo que a principal motivação para seu desenvolvimento foi minimizar a chance de animais de crescimento lento serem identificados como eficientes (BERRY; CROWLEY, 2012).

Em animais taurinos, Berry e Crowley (2012) descreveram fortes correlações genéticas e fenotípicas entre o CGR e suas características formadoras CAR e GPR, com valores superiores à |0,80|, além de correlações moderadas entre o CGR e consumo de concentrado e GMD. Já em bovinos Nelore, Santana et al. (2014a), entretanto, além de fortes correlações do CGR com CAR e GPR, também obtiveram fortes correlações genéticas e fenotípicas do CGR com IMS (-0,61 e -0,87, respectivamente) e fracas para GMD (0,20 e 0,12 para genética e fenotípica, respectivamente). Grion et al. (2014), por sua vez, obtiveram correlações fenotípicas moderadas entre CGR e IMS (-0,29) e GMD (0,37) e correlações genéticas fracas (-0,14 para IMS e 0,18 para GMD) também em animais Nelore.

Embora poucos estudos tenham sido realizados com o CGR, as elevadas correlações observadas entre este e o CAR permitem pressupor que os fatores que influenciam este indicador também possam estar associados a variações no CGR, além de também ser influenciado pelos mecanismos envolvidos na determinação do ganho de peso. Em revisões sobre os fatores biológicos que influenciam as variações no CAR em bovinos de corte Herd, Oddy e Richardson (2004) e Richardson e Herd (2004) listaram padrões de alimentação contribuindo com 2% da variação, diferenças na digestão de alimento com 10%, composição corporal com 5%, incremento calórico por alimentação com 9%, atividade locomotiva geral com 10%, sendo o *turnover* de proteínas, metabolismo tecidual e estresse responsáveis por cerca de 37% e fatores até então não mensurados 27%.

Nos últimos anos, diversos trabalhos têm analisado os mecanismos genéticos e moleculares que podem estar associados às diferenças na eficiência de utilização do alimento pelos animais, principalmente considerando animais classificados quanto ao CAR. Vários estudos para identificação de regiões genômicas, genes candidatos e SNPs potencialmente associados à eficiência alimentar em bovinos tem sido realizados tanto em taurinos (ABO-ISMAIL et al., 2014, 2018; HARDIE et al., 2017; KARISA et al., 2013; KARISA; MOORE; PLASTOW, 2014; SERÃO et al., 2013; SNELLING et al., 2011; WIDMANN et al., 2015) como em animais zebuínos da raça

Nelore (ALEXANDRE et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2014; OLIVIERI et al., 2016; SANTANA et al., 2014b, 2015, 2016), sendo que o metabolismo de lipídios, proteínas e energético, resposta imune, vias de sinalização e transporte de íons são freqüentemente associados com EA nesses estudos. A análise da expressão gênica pela transcriptômica também tem sido amplamente difundida, com diversos órgãos alvo, relacionando diferenças na expressão e redes de interação gênica a este fenótipo (ALEXANDRE et al., 2015; BENEDETI et al., 2018; KHANSEFID et al., 2017; PARADIS et al., 2015; SALLEH et al., 2017; TIZIOTO et al., 2015, 2016; WEBER et al., 2016; ZAREK et al., 2017). Estes estudos confirmaram a relação entre este fenótipo e processos relacionados ao metabolismo protéico e lipídico, com ênfase no metabolismo do colesterol e na resposta do sistema imunológico, confirmando a complementariedade entre dados genômicos e transcriptômicos.

Por outro lado, outras abordagens ômicas têm sido aplicadas a passos lentos no estudo da eficiência alimentar em bovinos. Poucos trabalhos foram realizados com as ferramentas da metabolômica, por exemplo, tendo sido realizados em frações sanguíneas como plasma (KARISA; MOORE; PLASTOW, 2014; MEALE et al., 2017; WIDMANN et al., 2015) e soro (CLEMMONS et al., 2017; NOVAIS, 2017), além do fluído ruminal (ARTEGOITIA et al., 2017). Os estudos com a abordagem proteômica na eficiência alimentar em bovinos, por sua vez, são ainda mais escassos, sendo identificados apenas dois trabalhos na literatura, um analisando o proteoma de líquido seminal (MONTANHOLI et al., 2016) e o outro do músculo longissimus dorsi (JUNG et al., 2017), sendo que poucos trabalhos também foram realizados em aves (BOTTJE et al., 2017a; 2017b; KONG et al., 2016) e suínos (FU et al., 2017; GRUBBS et al., 2013, 2014; VINCENT et al., 2015). O conhecimento do perfil de abundância dos genes em diferentes condições auxilia no conhecimento da função do gene e das rotas de regulação (BUNNIK; LE ROCH, 2013). No entanto, nem sempre existe uma relação entre a expressão gênica e a abundância de proteínas, que são as estruturas funcionais da célula, em decorrência de mecanismos distintos de controle nesses níveis (BUNNIK; LE ROCH, 2013; BERRY et al., 2011).

Após a transcrição, os RNAs mensageiros (mRNAs) são submetidos a mecanismos regulatórios relacionados a localização subcelular, propriedades físicas e estabilidade, *turnover* do mRNA, atuação de micro RNAs e sítios alternativos de tradução (ZAHA, 2014). Além disso, a atuação de proteínas reguladoras nas etapas

de tradução também influencia a correlação entre os níveis de expressão de mRNA e abundância da respectiva proteína. Ainda podem ser citados, conforme revisado por Maier, Güell e Serrano (2009), fatores como viés de códon, que diz respeito a utilização de códons sinônimos com frequências distintas em vários organismos, densidade ribossomal, ocupação do ribossomo, que por sua vez está relacionada ao enriquecimento de determinados tipos de mRNA nos ribossomos, bem como o tempo de meia-vida das proteínas, considerado o principal fator pós-traducional que influencia a correlação mRNA-proteina. Além dos fatores biológicos, esses autores destacam que a ocorrência de erros e ruídos experimentais durante as análises para obtenção de informação nos níveis de transcritos e proteínas também estão associados às baixas correlações observadas para estas moléculas em diversos estudos. Desta forma, torna-se interessante determinar se as vias e processos biológicos associados à EA ao nível dos genes também seriam relevantes ao nível da proteína.

2.3. Análises proteômicas

Os projetos genoma englobam o sequenciamento dos conjuntos de genes de um organismo inteiro ou de parte dele. Entretanto, não revelam dados sobre a expressão dos genes, a quantidade expressa e o funcionamento dos seus produtos. Para isto as abordagens do genoma funcional foram desenvolvidas, como a transcriptômica e a proteômica (SILVA; CORRÊA; REIS, 2007). O termo proteômica foi definido como a caracterização em larga escala do conjunto de proteínas expressas em uma célula ou tecido (WILKINS et al., 1996), sendo este conjunto denominado de proteoma (SILVA; CORRÊA; REIS, 2007). Diferente do genoma, o proteoma é dinâmico e variável. Considera-se, atualmente, que os genomas humano e bovino contêm de 20 mil a 25 mil genes codificadores de proteinas, sendo o proteoma potencialmente mais complexo (BERRY et al., 2011). Os genes são compostos de sequência linear de nucleotídeos relativamente invariável, já as proteínas resultantes destes são muito mais variadas na estrutura, função e faixa dinâmica. Esse aumento na complexidade ocorre em função do splicing alternativo do gene, das modificações pós-traducionais e de interações proteína-proteína (BERRY et al., 2011). Assim, o estudo do proteoma, nos últimos anos, passou a ser uma importante ferramenta na elucidação de algumas das várias informações fornecidas pela caracterização do genoma funcional (BENDIXEN, 2005; HAN; WANG, 2008).

A proteômica aborda, então, a estrutura, a função e o controle dos sistemas biológicos por meio da análise das propriedades das proteínas. Tenta traduzir a informação genômica, que é diversa e ambígua, em concreta e quantificável dentro dos sistemas biológicos de proteínas responsáveis por funções fisiológicas (ZAPATA; WICK, 2012). Esses estudos surgem para complementar os dados de análise e sequenciamento de genomas, com grande contribuição no entendimento das redes de funcionamento e regulação celular, sendo um elo entre o genótipo e o fenótipo de um organismo (SILVA et al., 2007). Segundo Rocha et al. (2005) o estudo da proteômica pode levar a três vertentes que são a descoberta de vias metabólicas nas diversas etapas celulares; viabilizar a identificação de novas moléculas bioativas em extratos biológicos naturais; e identificação e caracterização de marcadores biológicos. A utilização dessa ferramenta possibilita tanto a obtenção de mapas proteômicos de todo o tecido ou de proteínas após o pré-fracionamento, como comparação das modificações do proteoma em duas ou mais condições (MOLETTE et al., 2012). Assim, esta análise torna-se uma importante ferramenta para estudos sobre a fisiologia e a genética de dos organismos vivos (ROSSIGNOL et al., 2006).

A busca por biomarcadores tem se tornado um dos principais focos nos estudos proteômicos (BERGMAN; BERGQUIST, 2014). De acordo com Vasan (2006) o termo biomarcador foi introduzido como um termo *Medical Subject Heading* (MeSH) em 1989 e em 2001 um grupo de trabalho do *National Institutes of Health* dos Estados Unidos padronizou sua definição como sendo "uma característica que é objetivamente mensurada e avaliada como um indicador de processos biológicos normais, processos patogênicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica". É desejável que um biomarcador seja especificamente e quantitativamente correlacionado com o estado ou doença de interesse e que possa ser mensurado por métodos sensíveis e específicos que permitam resultados reprodutíveis. Contudo, existe uma gama de métodos que podem ser utilizados para identificação de biomarcadores na abordagem proteômica, sendo que os principais métodos são geralmente baseados na espectrometria de massas associada a diferentes técnicas de separação (BERGMAN; BERGQUIST, 2014). De acordo com Ghodasara et al. (2017), a principal vantagem dessa abordagem para identificação de biomarcadores consiste nas elevadas

especificidade e sensibilidade para mensurar proteínas chaves para regulação fisiológica e do metabolismo energético, que por sua vez, refletem alterações na homeostase. De forma geral, duas abordagens principais têm sido descritas nos estudos proteômicos, a *top-down* e a *bottom-up*.

Nos últimos anos, grandes esforços têm sido despendidos no aprimoramento das técnicas de análises por espectrometria de massas das proteínas intactas e complexos proteicos. A estratégia conhecida como *top-down* tem como fundamento a caracterização de proteínas intactas e algumas de suas vantagens são identificação de modificações pós-traducionais e determinação de isoformas e proteoformas, o que leva a identificação precisa das proteínas (AHLF; THOMAS; KELLEHER, 2013; ZHANG et al., 2013a). Entretanto, além das dificuldades técnicas de se analisar as proteínas intactas, e a baixa cobertura por injeção quando se trata de amostras com misturas complexas de proteínas, a necessidade de espectrômetros de massas de alta performance leva esta técnica a apresentar um elevado custo de implementação, sendo este ainda um fator limitante para muitos grupos de pesquisa (AHLF et al., 2013; CATHERMAN; SKINNER; KELLEHER, 2014).

Na abordagem *bottom-up* por sua vez, as proteínas são digeridas, quimicamente ou por proteólises enzimáticas, e os peptídeos resultantes são analisados por MS (BERGMAN; BERGQUIST, 2014). Dentre suas limitações estão cobertura incompleta da sequência de proteínas, perda das modificações póstraducionais (MPTs) e degradações decorrentes da digestão (SALVATO; CARVALHO, 2010). Contudo, apesar dessas deficiências, é a abordagem mais amplamente utilizada para caracterização e quantificação de proteínas em amostras biológicas (AMUNUGAMA et al., 2013), alcançando resultados altamente confiáveis.

2.4. Abordagem proteômica na produção animal

O maior objetivo da produção animal é a de fornecer alimentos para o consumo humano. A carne, leite e ovos são as principais fontes proteicas da dieta humana. As ciências animais, portanto, buscam essencialmente compreender os mecanismos biológicos relacionados com a produção de alimentos. As indústrias agropecuárias procuram minimizar os custos de produção e otimizar a produtividade, ao mesmo tempo em que necessitam adotar práticas para garantir a sanidade e o bem-estar animal. Isso para serem mais competitivas e terem a capacidade de atender as exigências de um mercado em expansão (BENDIXEN et al., 2011). Mesmo com todo potencial dos estudos proteômicos na aplicação em produção e saúde animal, esta abordagem ainda é pouco explorada nos animais de produção, sendo limitada principalmente em função dos custos das análises, carência de bons dados genômicos para espécies de interesse, bem como falta de conscientização das potencialidades dessa ferramenta por profissionais da área (ALMEIDA et al., 2015). Os estudos proteômicos na produção animal têm abordado principalmente o monitoramento da saúde e bem-estar animal por meio da identificação de biomarcadores, compreensão de vias metabólicas, definição do status sanitário, patógeno-hospedeiro, mecanismos patogênicos, interação diagnósticos, desenvolvimento de vacinas (ALMEIDA et al., 2015; BENDIXEN et al., 2010; DANIELSEN et al., 2010).

Embora o volume de trabalhos na medicina veterinária e saúde animal que se utilizam dessa ferramenta tenham aumentado nos últimos anos, ainda configuram uma pequena porção de todos os resultados gerados com a abordagem proteômica (BILIC et al., 2018). Quando se refere aos estudos direcionados para as características de produção e melhoria da qualidade do produto, o número de pesquisas é ainda menor. Tholey et al. (2017) apresentou em sua revisão a importância dos estudos de proteomas não-humanos, onde relata os avanços obtidos após seis anos do lançamento da iniciativa em proteomas multiorganismos (*initiative on mutiorganism proteomes* – iMOP). Esta iniciativa partiu da necessidade de ampliação do estudo proteômico além do organismo humano, sendo imprescindível o estudo do ambiente e das espécies com as quais o ser humano interage para maior compreensão da biologia e saúde humana. Neste contexto, os autores destacaram a relevância do conhecimento sobre a biologia dos animais de produção.

Além do cérebro e do plasma, o fígado foi um dos órgãos selecionados para a fase inicial do Projeto Proteoma Humano, onde vários mapas de proteomas foram publicados com um máximo de 2495 proteínas identificadas (YING et al., 2006). Na produção animal, os primeiros mapas de proteomas de fígado estudados foram os de bovinos (*Bos taurus*). Estes proteomas foram publicados por Talamo et al. (2003) e D'Ambrosio et al. (2005), por meio da técnica de 2-DE. Esses projetos objetivaram definir mapas proteômicos em tecidos distintos como fígado, rim, músculo e células

vermelhas do sangue e fluídos como o plasma e compará-los para elaborar um banco de dados do proteoma bovino. Talamo et al. (2003) distinguiram 484 spots nos géis elaborados com proteínas hepáticas, dos quais 112 corresponderam a 58 proteínas, que foram identificadas por espectrometria de massas. Segundo os autores, dessas proteínas, um grande número de espécies poderia estar relacionado com funções bioquímicas e fisiológicas especializadas, sendo enzimas envolvidas na geração de energia, no metabolismo de carboidratos, lipídios, aminoácidos e xenobióticos, além de proteínas envolvidas na síntese de polipeptídios, flexibilidade e estrutura celular. D'Ambrosio et al. (2005), por sua vez, identificaram 134 spots que corresponderam a 71 proteínas, que apresentaram as mesmas funções descritas por Talamo et al. (2003).

A partir desses estudos, novos projetos de mapeamento de proteomas de fígado começaram a ser desenvolvidos para diversas espécies de animais de interesse econômico. Pesquisas estas que focaram desde comparações dos proteomas em condições distintas a trabalhos visando à busca de biomarcadores e rotas envolvidas nos processos fisiológicos e bioquímicos relevantes na produção animal. Tsujita et al. (2008), por exemplo, fizeram uso das ferramentas proteômicas para determinar o estado de diferenciação de progenitores das células da glândula salivar (células-tronco) de suínos, comparando amostras da glândula salivar, fonte dessas células, e do fígado, destino das células diferenciadas, sendo o primeiro trabalho a relatar catálogos de proteínas em larga escala para os órgãos de suínos. Golovan et al. (2008), por outro lado, descreveram o proteoma do fígado de suínos avaliando em segundo momento a expressão com relação ao sexo e duas linhagens distintas, o transgênico *Enviropig* e o convencional Yorkshire, além de compararem o proteoma hepático suíno com proteomas de fígado humano e de rato, relatando que 80% das proteínas foram comuns aos três proteomas.

O fígado é um órgão complexo que desempenha função fundamental no organismo, sendo responsável por muitos processos metabólicos essenciais. Está relacionado ao metabolismo de lipídios e carboidratos, à síntese de ácidos graxos e de proteínas do plasma, produção da bile, além de processos de desintoxicação de substâncias agressivas ao organismo e medicamentos, síntese de ureia para eliminar resíduos nitrogenados, armazenamento de glicogênio e vitaminas (MOLETTE et al., 2012b; JIANG et al., 2013). As células hepáticas apresentam diversas enzimas que

são encontradas no citosol, microssomas, mitocôndrias e outras organelas, essenciais para a chave de interconversões metabólicas (JIANG et al., 2013). Como órgão central para a rede de distribuição de energia, é responsável pelo processamento de produtos da digestão e gerenciamento de fornecimento de nutrientes para suprir as necessidades nutricionais do organismo (DOELMAN et al., 2012), desempenhando função essencial no metabolismo intermediário e nas respostas homeostáticas para alterações nutricionais (VALLE et al., 2008).

Os projetos desenvolvidos com proteomas do fígado permitem além de melhor entendimento do funcionamento do próprio órgão, maior compreensão de aspectos bioquímicos e fisiológicos do metabolismo animal como um todo (MOLETTE et al. 2012). Além disso, o conhecimento mais detalhado do organismo e a utilização de biomarcadores são ferramentas importantes que também podem auxiliar na otimização do equilíbrio sustentável entre produtividade, qualidade do produto e bemestar animal (BENDIXEN et al., 2011).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

O objetivo do presente estudo foi a partir da análise do proteoma hepático de bovinos da raça Nelore, identificar biomarcadores, assinaturas e vias associadas à Eficiência Alimentar.

3.2. Objetivos específicos

- Identificar proteínas diferencialmente abundantes no fígado de bovinos da raça Nelore divergentes para eficiência alimentar utilizando-se a metodologia de digestão das proteínas em solução seguida de análise por cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas com análise em *tandem* (LC-MS/MS);
- Identificar proteínas diferencialmente abundantes no fígado de bovinos da raça Nelore divergentes para eficiência alimentar utilizando-se a metodologia de digestão das proteínas em gel seguida de análise por cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas com análise em *tandem* (GeLC-MS/MS);
- Caracterizar processos biológicos e vias metabólicas relacionadas às proteínas diferencialmente expressas;
- Identificar módulos de proteínas co-expressas associados ao fenótipo de eficiência alimentar a partir do proteoma do fígado dos animais eficientes e menos eficientes;
- Caracterizar vias metabólicas relacionadas aos módulos de proteínas coexpressas associados à eficiência alimentar;
- Identificar potenciais biomarcadores proteicos para o fenótipo de eficiência alimentar em bovinos de corte da raça Nelore.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Obtenção das amostras

O presente projeto foi conduzido como parte de um estudo anterior sobre eficiência alimentar em bovinos da raça Nelore. Informações completas sobre a metodologia experimental, manejo dos animais e coleta de dados estão descritas em Alexandre et al. (2015). Os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP) sob número 14.1.636.74.1.

Brevemente, foi realizado confinamento de 98 bovinos machos inteiros da raça Nelore com aproximadamente 18 meses de idade e média de 376 \pm 29 kg de peso vivo, para classificação dos animais quanto à eficiência alimentar. Os animais provenientes do rebanho da prefeitura do Campus USP Fernando Costa (PPUSP-FC), localizado em Pirassununga-SP, foram instalados no Confinamento Experimental do Departamento de Zootecnia. O período experimental compreendeu 21 dias de adaptação e 70 dias de avaliação. A dieta consistiu em milho grão (50,9%), silagem de milho (27%), farelo de soja 45% (13,7%), polpa cítrica peletizada (6%), uréia (1%), calcário (0,6%), sal mineral (0,6%) e cloreto de potássio (0,2%), sendo 75% de concentrando e 25% de volumoso, com 79% de nutrientes digestíveis totais e 17% de proteína bruta.

Estes animais foram classificados para os indicadores de eficiência alimentar, sendo identificados 40 animais como extremos em função do CGR, 20 para alta eficiência (CGR médio = $1,40 \pm 0,4$ kg/dia; CAR médio = $-1,14 \pm 0,4$ kg/dia) e 20 para baixa eficiência (CGR médio = $-1,53 \pm 0,6$ kg/dia; CAR médio = $1,24 \pm 0,5$ kg/dia), que foram abatidos no abatedouro da PUSP-FC, dos quais foram coletados fragmentos do fígado que foram congelados em nitrogênio líquido e armazenados em freezer -80° C (ALEXANDRE et al., 2015).

Nesta tese foram utilizadas seis amostras oriundas de animais classificados como alta eficiência (AEA) e seis de baixa eficiência alimentar (BEA), tanto em função do CGR como em função do CAR, embora ranqueados distintamente para estes indicadores. As amostras foram analisadas por duas abordagens proteômicas distintas:

a) LC-MS/MS: após extração e precipitação procedeu-se à digestão enzimática em solução, sem separação prévia, e análise dos peptídeos trípticos após separação por cromatografia líquida de alta eficiência com colunas nano (Nano-LC), acoplada ao espectrômetro de massas. Para esta estratégia foram analisadas amostras de seis animais de AEA (CGR médio = 1,91 ± 0,27; CAR médio = -1,47 ± 0,34) e seis de BEA (CGR médio = -2,08 ± 0,42; CAR médio = 1,67 ± 0,48).

b) GeLC-MS/MS: as proteínas foram separadas por eletroforese unidimensional em gel. O gel foi fragmentado e digerido (digestão em gel). A solução de peptídeos obtida foi submetida a separação por Nano-LC acoplada ao espectrômetro de massas. Nesta estratégia foram utilizadas amostras dos mesmos animais da abordagem anterior, contudo foram analisadas apenas quatro amostras de cada grupo: AEA (CGR médio = 1,94 ± 0,35; CAR médio = -1,46 ± 0,44) e BEA (CGR médio = -2,17 ± 0,50; CAR médio = 1,77 ± 0,58).

4.2. Análises proteômicas

4.2.1 Extração, precipitação e quantificação das proteínas

Para extração das proteínas as amostras de fígado de cada animal foram processadas individualmente, de acordo com Xu et al. (2008) com pequenas modificações. Quinhentos miligramas foram homogeneizados em tampão de extração contendo ureia 8 M, CHAPS 4%, DTT 65 mM e inibidor de protease (GE Healthcare, Little Chalfont, United kingdom) na concentração de 50 µl/g de amostra, com auxílio de triturador automático por um minuto, com as amostras incubadas em gelo. Após a homogeneização, os extratos foram incubados em gelo por três horas sob agitação. Posteriormente procedeu-se a centrifugação das amostras a 10.000g por 30 minutos a temperatura de 4°C. Os sobrenadantes foram coletados e armazenados em freezer -80 °C até utilização.

Os extratos proteicos foram precipitados em acetona. Para tal, foram adicionados 600 µl de acetona gelada em 100 µl de cada extrato e incubados overnight a temperatura de -20°C. Após a incubação as amostras foram centrifugadas por 10 min a 10.000g, descartando-se o sobrenadante. Posteriormente adicionou-se 200 µl de acetona gelada ao pellet que ficou no tubo, agitou em agitador tipo vortex,

incubou-se por 30 min a -20°C e centrifugou-se por 10 min a 10000g, descartando novamente o sobrenadante, sendo que esta etapa foi realizada cinco vezes, até o pellet ficar bem claro. O pellet foi então solubilizado em 200 µl de tampão de ureia 8 M em bicarbonato de amônio (AmBic) 100 mM e armazenado a -80°C para análises posteriores.

O teor de proteínas das amostras foi quantificado com auxílio do kit 2-D Quant (GE Healthcare, Little Chalfont, United kingdom), seguindo recomendações do fabricante. O kit utiliza a albumina sérica bovina como padrão em quantidades correspondentes a 0, 10, 20, 30, 40 e 50 µg de proteína, analisadas em duplicata, para elaboração da curva padrão, a partir da qual se obteve a equação para determinação dos teores de proteínas nas amostras. Os extratos foram quantificados em duplicata e a curva em triplicata.

4.2.2. Processamento das amostras para análise LC-MS/MS

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Espectrometria de Massas e Pesquisas de Proteoma (Biomass), do Centro de Facilidades de Apoio à Pesquisa (CEFAP) do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da USP para processamento e identificação das proteínas pela plataforma NanoLC Easy-LTQ Orbitrap Velos-ETD (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). Conforme protocolo disponibilizado, foi adicionado 0,5 µL de ditiotreitol (DTT) 1M em 20 µL de cada amostra e incubou-se em termomixer a 100 rpm por 30 min a 37°C. Após atingir temperatura ambiente, adicionou-se 5 µL de iodoacetamida (IAA) 200mM, misturadas e incubadas por 30 min no escuro, sendo adicionados 2 µL de DTT em seguida. Posteriormente, para diluir a concentração de ureia, foram acrescentados 90 µL de tampão de digestão contendo 50 mM de AmBic + acetonitrila (ACN) 10%. A enzima tripsina foi acrescentada a uma proporção de 1:50 (enzima:proteína). A solução foi incubada por aproximadamente 16h à 37°C. Para interromper a digestão, após o período de incubação, foi adicionado ácido fórmico 10%. A ACN foi removida por centrifugação a vácuo e os peptídeos dessalinizadas e concentrados com microcolunas de purificação de fase reversa ZipTip® C18, P10 (Merck Millipore, Billerica, Massachusetts, USA).

4.2.2.1. Análise em espectrômetro de massas e identificação das proteínas

Os peptídeos oriundos da digestão foram analisados em espectrômetro LTQ-Orbitrap Velos ETD (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) acoplado ao sistema de cromatografia Easy NanoLC II (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). A separação foi em coluna de fase reversa C18 com um gradiente de 90 min e a metodologia de fragmentação adotada foi a colisão induzida de alta energia (HCD). A aquisição dos espectros foi no modo *Data Dependent Acquisition* (DDA). Cada amostra foi analisada em duplicata técnica que posteriormente foram combinadas para realização da busca contra o banco de dados. Os espectros dos peptídeos obtidos foram submetidos à identificação das proteínas utilizando o programa MaxQuant versão 1.5.8.3 com a ferramenta de busca Andromeda (COX; MANN, 2008; COX et al., 2014).

Foram utilizados para as buscas os bancos *Bos taurus_Uniprot* (48.738 entradas, janeiro de 2018) e *Bos indicus_*Uniprot (1.252 entradas, janeiro de 2018), contendo formas canônicas + isoformas. Os parâmetros de busca consistiram em: carbamidometilação de resíduos de cisteína como modificação fixa; oxidação dos resíduos de metionina, acetilação e deamidação (NQ) como modificações variáveis; enzima tripsina com tolerância de duas clivagens perdidas; tolerância de erro de massa para peptídeo precursor de 20 ppm na primeira busca e 6 ppm na busca principal; tolerância de erro de massa para fragmentos (MS/MS) de 0,5 Da; taxa de falso positivo (*false dicovery rate - FDR*) de 1% para proteínas e peptídeos. As proteínas identificadas foram submetidas a quantificação relativa com base no método sem marcação (*label free quantification – LFQ*), onde os perfis de intensidade normalizados (*LFQintensity*) foram calculados considerando no mínimo 1 peptídeo identificado por MS/MS para comparações pareadas ("*LFQ minimun ratio count = 1*") (CHENG et al., 2016; GEYER et al., 2016; NELISSEN et al., 2015).

4.2.3. Processamento das amostras para análise GeLC-MS/MS

As amostras foram preparadas para obtenção de 50 μ g de proteínas e solubilizadas em tampão de diluição, composto por tris-HCl 0,5 M (pH 6,8); glicerol 10% (v/v); SDS 2% (m/v); β -mercaptoetanol 5% (v/v) e azul de bromofenol, para um

volume final de 10 µL. Para a corrida eletroforética utilizou-se o gel pronto 10%, 10 poços, o tampão de corrida e a cuba horizontal do kit Amersham ECL Gel Box (GE Healthcare, Little Chalfont, United kingdom). Os extratos foram incubados à 100°C por quatro minutos e aplicados nos poços do gel. A corrida foi realizada com voltagem constante (160V) por 20 min. Ao finalizar a corrida, o gel foi retirado e fixado por 30 min em solução contendo ácido acético (10%) e etanol (40%) sob agitação. Após este período, foram submersos em solução corante de Coomassie Blue G250 overnight sob agitação. Posteriormente, a solução corante foi substituída por água ultrapura para eliminar o excesso de pigmentação e o gel escaneados para obtenção das imagens com Image Scanner III (GE Healthcare, Little Chalfont, United kingdom).

4.2.3.1. Digestão em gel

A etapa de digestão em gel foi realizada conforme Shevchenko et al. (2006). Os géis fragmentados foram descorados com três lavagens de 10 min cada, usando 200 µl de solução ACN 50% (v/v) em AmBic 25 mM. Posteriormente foram desidratados por 10 min com a adição de 200 µl de ACN 100%. Após retirar a ACN, o resíduo de gel foi mantido a temperatura ambiente para completa evaporação. Os fragmentos foram reduzidos por 40 min a 56°C com 40 µl de solução de DTT 20 mM em AmBic 50 mM. Após remoção da solução, foram alquilados pela incubação das amostras com 60 µl de IAA 55 mM em AmBic 50 mM por 30 min, a temperatura ambiente e no escuro. Esta solução foi removida e os fragmentos lavados com 200 µl de solução de AmBic 25 mM. Em seguida, procedeu-se à desidratação, duas vezes, por 10 min com 200 µl de ACN 100%.

Para digestão adicionou-se 15 µl de tripsina na concentração de 20ng/µl aos fragmentos e incubou-se por 15 minutos a 4°C. O excesso de tripsina foi retirado e 70 µl de AmBic 50 mM foram acrescentados, para cobertura completa dos fragmentos. As amostras foram incubadas à 37°C por 14 horas e após a incubação, acrescentou-se 15 µl de solução bloqueadora contendo ácido fórmico 5% em ACN 50%, para interromper a ação da tripsina. O sobrenadante foi recuperado e transferido para outro microtubo. Os fragmentos de gel remanescentes foram submetidos à eluição, que consistiu em três etapas, sendo que a primeira e a segunda foram repetidas duas vezes. Na primeira etapa incubou-se os fragmentos por 15 minutos a 40°C, com

agitação a cada cinco minutos, em 40 µl da solução de eluição I (ácido fórmico 1% em metanol 60%). Na segunda etapa as amostras foram incubadas em 40 µl da solução de eluição II (ácido fórmico 1% em ACN 50%). A terceira eluição consistiu na adição de 40 µl de ACN 100% para desidratação dos fragmentos. Ao final de cada passo descrito o sobrenadante foi recuperado e transferido para o mesmo microtubo que continha o sobrenadante da digestão com a solução bloqueadora. Esta solução final contendo os peptídeos eluídos do gel foi concentrada à vácuo e à temperatura ambiente até aproximadamente 1 µl.

As amostras foram ressuspendidas em 10 µl de ácido trifluoracético 0,1% em ACN 100% e dessalinizadas pela passagem em colunas de fase reversa ZipTip® C18, P10 (Merck Millipore, Billerica, Massachusetts, USA) conforme recomendações do fabricante. Logo após foram concentradas a vácuo, à temperatura ambiente e armazenadas a -80°C até serem encaminhadas ao Laboratório Nacional de Biociências (LNBio) do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), localizado na cidade de Campinas-SP, para realização das análises de espectrometria de massas.

4.2.3.2. Análise em espectrômetro de massas e identificação das proteínas

No LNBio/CNPEM as amostras contendo os peptídeos foram reconstituídas em ácido fórmico 0,1% em ACN 50%, homogeneizadas, centrifugadas e o sobrenadante coletado para análise armazenado em *vials*. Alíquotas de 4,5 µl foram separadas em colunas cromatográficas de fase reversa C18 (100 µm x 100 mm) RP-nanoUPLC (nanoACQUITY, Waters, Milford, Massachusetts, USA) acoplado ao espectrômetro de massas Q-TOF Premier (Waters, Milford, Massachusetts, USA) com fonte de ionização *nanoeletrospray* a uma taxa de 0,6 µL/min. O gradiente utilizado foi de 2-90% de ACN em ácido fórmico 0,1% por 50 min com tensão ajustada para 3,5 kV e voltagem do cone de 30 V com temperatura da fonte à 100 °C. A aquisição dos espectros foi no modo DDA e o instrumento foi programado para o modo *"top three"*, no qual um espectro parental (MS) é adquirido seguido por fragmento (MS/MS) dos três principais picos identificados com maior intensidade. Os espectros foram adquiridos com o programa MassLynx v.4.1 (Waters, Milford, Massachusetts, USA) e

os arquivos brutos (.raw) foram convertidos ao formato peak list (.mgf) pelo software Mascot Distiller versão 2.3. 02 (Matrix Science Ltd., London, United Kingdom).

Para identificação das proteínas utilizou-se o banco de dados *Bos taurus*_Uniprot (44.491 entradas, abril de 2016). As ferramentas de busca utilizadas foram o Mascot Distiller versão 2.3. 02 (Matrix Science Ltd., London, United Kingdom) e X! Tandem versão Ciclone 2010.12.01.1, disponibilizada no Scaffold Q+ 4.8.4 (Proteome Software, Portland, Oregon, USA), que foi utilizado para validar a identificação. Os parâmetros de busca foram enzima tripsina; máximo de dois sítios de clivagem perdidos; carbamidometilação como modificação fixa; oxidação de metionina como modificação variável; tolerância de massa de 10 ppm para peptídeo e de 0,5 Da para fragmentação (MS/MS). Aplicou-se a opção de agrupamento pelo método "*Shared Peptide Grouping*", que reduz a probabilidade de se identificar como proteínas distintas aquelas que compartilham muitos peptídeos entre si, agrupando-as em uma mesma família. Foram aceitos os peptídeos com probabilidade maior que 95% e proteínas maior que 99% e pelo menos um peptídeo único identificado, culminando em FDR igual a zero.

4.3. Análises estatísticas

4.3.1. Dados obtidos por LC-MS/MS

As análises estatísticas foram realizadas com os valores de intensidade normalizados (*LFQintensity*) com o programa PERSEUS versão 1.6.0.7 (TYANOVA et al., 2016). Antes das análises estatísticas as proteínas contaminantes e identificadas pelo banco reverso foram eliminadas. Os valores *LFQintensity* foram submetidos à transformação logarítmica (log2) e filtrados para um mínimo de amostras com valores ausentes (zero), sendo mantidas apenas as proteínas com ocorrência em pelo menos 50% das replicatas biológicas de ambos os grupos experimentais (BEA e AEA).

Os dados ausentes foram substituídos por valores imputados com a opção "Replace missing values from a normal distribution" separadamente para cada coluna (amostra), que consiste na substituição dos valores zero por números aleatórios extraídos de uma distribuição normal, considerando todos os dados de expressão. A imputação de dados é recomendada porque nas análises proteômicas pelo método DDA nem todos os peptídeos presentes são identificados. Desta forma, a ausência de valores de expressão não significa necessariamente que as proteínas não estejam presentes nas amostras, mas apenas que seus peptídeos não foram captados e analisados pelo espectrômetro de massas. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de correlação linear de Pearson e após normalização por *Z*-*score* ao agrupamento hierárquico não supervisionado utilizando-se a distância Euclidiana e pré-processamento com o algoritmo particional *K-Means* com k = 300 (sendo k um valor arbitrário que define o número de grupos iniciais e este valor recomendado pelo programa). Para visualizar a distribuição e intensidade de todas as proteínas foi elaborado um mapa de calor considerando os níveis de expressão das proteínas em função das amostras biológicas.

Os valores de *LFQintensity* transformados (log2) foram comparados entre os grupos de alta e baixa eficiência alimentar adotando-se o teste-t (p-valor < 0,05). As proteínas diferencialmente abundantes (PDAs) foram agrupadas hierarquicamente após normalização por *Z-Score* utilizando-se a distância Euclidiana e préprocessamento com *K-Means*, sendo k = 300. A análise de componentes principais (*Principal Component Analysis* – PCA) foi realizada utilizando-se o programa estatístico R, com o pacote *ropls* (THÉVENOT et al., 2015).

4.3.2. Dados obtidos por GeLC-MS/MS

Os dados obtidos pela abordagem de digestão em gel foram analisados no programa Scaffold Q+S versão 4.8.4 (Proteome Software, Portland, Oregon, USA) e no PERSEUS versão 1.6.0.7 (TYANOVA et al., 2016). Para a análise estatística foram mantidas apenas proteínas identificadas em pelo menos três amostras de cada grupo. Os valores de abundância relativa das proteínas normalizados com base na contagem de espectros corrigido pelo tamanho da proteína, *Normalized Spectral Abundance Factor (NSAF*), foram obtidos no Scaffold Q+S. Posteriormente, esses dados foram exportados e analisados no PERSEUS versão 1.6.0.7 (TYANOVA et al., 2016).

Para obtenção de uma distribuição aproximadamente normal os valores *NSFA* foram transformados (log2) e os dados ausentes substituídos por valores imputados com a opção "*Replace missing values from a normal distribution*" separadamente para

cada amostra, que consiste na substituição dos valores zero por números aleatórios extraídos de uma distribuição normal, considerando todos os dados de expressão. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de correlação linear de Pearson e após normalização por *Z*-score ao agrupamento hierárquico não supervisionado utilizando-se a distância Euclidiana e pré-processamento com o algoritmo particional *K-Means* com k = 300. Para visualizar a distribuição e intensidade de todas as proteínas foi elaborado um mapa de calor considerando os níveis de expressão das proteínas em função das amostras biológicas. A comparação entre os grupos de baixa e alta eficiência alimentar foi realizada pelo teste t, considerando-se diferenças como significativas com p-valor < 0,05. A PCA foi realizada utilizando-se o programa estatístico R, com o pacote *ropIs* (THÉVENOT et al., 2015).

4.4. Análises de Bioinformática

Em decorrência do reduzido número de amostras utilizadas na abordagem GeLC-MS/MS e PDAs obtidas nesta estratégia, as análises subsequentes foram realizadas apenas com os dados originados pela abordagem LC-MS/MS.

4.4.1. Interação proteína-proteína

As PDAs foram submetidas à análise de interação proteína-proteína com o *software online STRING* versão 10.5 (SZKLARCZYK et al., 2015, 2017), utilizando-se as definições de conexões (pontes entre as proteínas) representando o tipo de evidência da interação e escore mínimo de confiança requerido para cada interação de 0,40 (média). Este escore indica a probabilidade de uma interação ser verdadeira em função das evidências disponíveis, sendo que o escore final para cada interação representa uma combinação entre os escores obtidos para cada tipo de evidência. A rede de interação é associada a um p-valor (significância da rede) que representa a probabilidade de se obter um número igual ou superior de interações ao acaso. O banco de dados utilizado neste *software* considera interações diretas (físicas) e indiretas (funcionais) e possui tanto dados experimentais quanto dados preditos.
4.4.2. Enriquecimento funcional

As PDAs foram submetidas à categorização funcional dos termos do Gene Ontology (GO) para processo biológico (PB), componente celular (CC) e função molecular (FM) com auxílio do programa Analysis Toolkit and Database for Agricultural Community (agriGO), uma plataforma disponível online (DU et al., 2010; TIAN et al., 2017). Foi utilizado o teste estatístico Hipergeométrico, sendo considerados significativamente enriquecidos os termos com p-ajust < 0,05 (corrigido para testes múltiplos pelo método de Bonferroni) e no mínimo cinco proteínas presentes em cada termo. Como background foi adotado o genoma de Bos taurus do InterProScan com total de 14927 termos. Após obtenção dos valores de p-ajust dos termos enriquecidos pelo agriGO, as categorias com número elevado de termos significativos foram analisadas com o software Reduce + Visualize Gene Ontology – REVIGO (SUPEK et al., 2011) para simplificar a lista obtida pela remoção dos termos redundantes. Utilizou-se a medida de similaridade semântica SimRel e limiar baixo (0,50) para obtenção de maior síntese da lista, utilizando-se os demais parâmetros padrão. A análise de enriquecimento de vias metabólicas com base no Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) também foi realizada. Foi utilizado o programa STRING versão 10.5 (SZKLARCZYK et al., 2015, 2017), adotando-se como significativas as vias com p-valor < 0,05, corrigido para testes múltiplos por FDR pela metodologia de Benjamini e Hochberg (p-ajust < 0,05), que é o método padrão do software.

4.5. Redes de co-expressão e enriquecimento de vias metabólicas dos módulos significativos

As proteínas foram submetidas a análise de co-expressão por meio do pacote *Weighted Correlation Network Analysis* (WGCNA), disponível no *software* estatístico R (LANGFELDER; HORVATH, 2007, 2008; ZHANG; HORVATH, 2005). Os dados LFQ *intensity* transformados (log2) e imputados foram utilizados para esta análise. Foi construída uma matriz de correlação de Pearson, onde o sinal da correlação foi preservado ("*signed network*"), que posteriormente foi convertida à matriz de adjacência ponderada, ajustando as correlações com um fator exponencial $\beta = 17$ (*soft threshold*), obtendo-se a topologia de escala livre com R² = 0,85. Os módulos foram

definidos utilizando-se a matriz topológica de sobreposição (TOM) com base nas medidas de dissimilaridade (1-TOM) entre os nós em conjunto com o método de agrupamento hierárquico, considerando um número mínimo de 15 proteínas por módulo. Os módulos formados foram identificados com cores distintas, sendo que no módulo cinza são agrupadas as proteínas que não foram atribuídas a nenhum módulo de co-expressão. Os módulos foram correlacionados aos indicadores de eficiência alimentar CGR e CAR. Correlações com p-valor < 0,10 foram consideradas significativas. As proteínas com valor de filiação ao módulo (*module membership* – MM) superior à 0,60 (p-valor < 0,05) e significância da proteína (SP) superior à |0,60| (p-valor < 0,05) para algum dos indicadores, CGR ou CAR, foram consideradas biologicamente significativas para eficiência alimentar. Os módulos significativamente relacionados às características de eficiência alimentar foram visualizados com o Cytoscape versão 3.6.0 (SHANNON et al., 2003).

A análise de enriquecimento de vias KEGG foi realizada para os módulos significativamente correlacionados à eficiência alimentar obtidos na análise de co-expressão, sendo utilizadas para o enriquecimento apenas aquelas proteínas com valor de MM igual ou superior a 0,60 e p < 0.05, além de correlação com outros módulos inferior à 0,60. As análises foram realizadas com o programa *STRING* versão 10.5 (SZKLARCZYK et al., 2015, 2017) e, assim como para as PDAs, as vias foram consideradas significativas caso apresentassem p-ajust < 0,05.

5. RESULTADOS

5.1. Caracterização proteômica do fígado de bovinos Nelore

5.1.1. Abordagem LC-MS/MS

Como muitas proteínas compartilham elevado número de peptídeos entre si, dificultando a distinção entre elas, o programa MaxQuant faz a identificação e quantificação das proteínas a nível de grupo para que a informação quantitativa seja inequívoca. Desta forma, os grupos identificados poderão apresentar isoformas de uma mesma proteína ou proteínas homólogas de diferentes loci (TYANOVA; TEMU; COX, 2016). Assim, a partir desta análise foram identificados 529 grupos de proteínas, dos quais 226 corresponderam a proteínas únicas e 303 grupos com pelo menos duas proteínas. Para controle de qualidade dos dados, excluíram-se 25 grupos de proteínas contaminantes identificadas pelo próprio programa e cinco proteínas identificadas pelo banco reverso, além das proteínas que não estavam presentes em pelo menos 50% das amostras de ambos os grupos experimentais. Após os critérios de eliminação foram mantidas 376 proteínas, todas identificadas com ao menos um peptídeo único. Deste total, 292 proteínas (77,66%) estavam presentes em todas as replicatas biológicas, havendo a necessidade de se imputar uma pequena quantidade de dados, minimizando vieses.

Foi realizada uma análise de correlação de Pearson entre as amostras biológicas, revelando elevada correlação entre elas, superiores à 0,90 (Figura 1). Estas correlações implicam em grande similaridade entre os proteomas dos animais eficientes e menos eficientes, sendo que as diferenças observadas podem de fato apontar direções para os mecanismos que tornam estes animais distintos.



Figura 1 - Correlações de Pearson entre os valores de quantificação relativa das proteínas identificadas nas amostras de fígado de bovinos Nelore de alta (AEA) e baixa eficiência alimentar (BEA) pela abordagem LC-MS/MS.

Fonte: Própria autoria.

Na PCA, os quatro primeiros componentes explicaram mais de 50% da variabilidade total dos dados, sendo o primeiro e segundo componentes graficamente representados em um plano bidimensional (Figura 2).



Figura 2 - Análise de componentes principais do proteoma das amostras de fígado de bovinos Nelore de alta (AEA) e baixa eficiência alimentar (BEA) obtido pela abordagem LC-MS/MS. A: representação em plano bidimensional das duas componentes de maior variabilidade.

Fonte: Própria autoria.

Pela análise de PCA pode-se observar que as amostras do grupo de baixa eficiência alimentar apresentaram-se mais dispersas, sendo que a amostra BEA_6 encontra-se no círculo limite para caracterização como *outlier* e a amostra BEA_2 aproxima-se mais do grupo de alta eficiência. Entretanto, no grupo de alta eficiência todas as amostras mantiveram-se no mesmo quadrante, indicando possivelmente maior homogeneidade entre esses animais. Este mesmo comportamento pode ser observado no dendrograma resultante da análise de *cluster* hierárquico não supervisionado (Figura 3).





Fonte: Própria autoria.

5.1.2. Abordagem GeLC-MS/MS

Na abordagem GeLC-MS/MS, após a corrida de eletroforética, as linhas do gel correspondentes a cada animal foram separadas e cortadas em cinco fragmentos de tamanhos semelhantes com auxílio de uma lâmina de bisturi em placa de *petri*. Desta forma, obteve-se 40 fragmentos distintos que foram processados individualmente para digestão e identificação. A imagem do gel escaneado foi utilizada como molde para identificar as áreas de corte (Figura 4).



Figura 4 - Imagem do gel obtido por 1D-SDS-PAGE das proteínas extraídas do fígado de bovinos Nelore classificados quanto à eficiência alimentar

As delimitações das bandas ilustram onde os cortes foram realizados para processamento das amostras individualmente. 1D-SDS-PAGE: eletroforese unidimensional em gel de poliacrilamida; AE: alta eficiência alimentar; BE: baixa eficiência alimentar. Fonte: Própria autoria.

Foram identificadas 229 proteínas distribuídas em 177 grupos. Em decorrência do reduzido número de amostras analisadas nesta estratégia proteômica, optou-se por manter para as análises subsequentes apenas as proteínas identificadas em pelo menos três replicatas biológicas de cada grupo experimental. Ainda, proteínas contaminantes em potencial também foram excluídas. Desta forma, obteve-se um banco com 102 proteínas, das quais 78 (76,47%) estavam presentes em todas as amostras.

A análise de Pearson revelou correlações de moderadas a altas entre as amostras, com correlação mínima de 50,10% e máxima de 87,54%, sendo que a amostra BEA_1 apresentou as menores correlações com amostras de ambos os grupos (Figura 5).



Figura 5 - Correlações de Pearson entre os valores de quantificação relativa das proteínas identificadas nas amostras de fígado de bovinos Nelore de alta (AEA) e baixa eficiência alimentar (BEA) pela abordagem GeLC-MS/MS.

Fonte: Própria autoria.

Na PCA, os dois primeiros componentes explicaram 53% da variabilidade total dos dados, sendo graficamente representados em um plano bidimensional (Figura 6).



Figura 6 - Análise de componentes principais do proteoma das amostras de fígado de bovinos Nelore de alta (AEA) e baixa eficiência alimentar (BEA) obtido pela abordagem GeLC-MS/MS.

Fonte: Própria autoria.

Observa-se que nenhuma amostra se comportou como *outlier*, contudo, uma amostra de cada grupo (AEA_1 e BEA_1) afastou-se das demais, sendo que a amostra BEA_5 também permaneceu em quadrante distinto, demonstrando, assim como observado na PCA e cluster hierárquico dos dados obtidos pela abordagem LC-MS/MS, que o grupo de baixa eficiência apresenta maior heterogeneidade. O dendrograma resultante da análise de *cluster* hierárquico não supervisionado bem como o perfil de expressão das proteínas entre as amostras pode ser observado na figura 7.





Fonte: Própria autoria.

5.2. Análise proteômica diferencial

5.2.1. Abordagem LC-MS/MS

Comparando-se os proteomas dos grupos classificados quanto à eficiência alimentar foram identificadas 42 PDAs (p < 0,05), das quais 23 apresentaram maior abundância nos animais de BEA (Tabela 1) e 19 menos abundantes neste grupo (Tabela 2).

Uniprot ID ¹	Gene	Nome da proteína	PU ²	PM ³	% SC4	FC⁵	p-valor ⁶		
P55859	PNP	Purina nucleosideo fosforilase	4	32,066	23,50	0,69	0,003		
P19120	HSPA8	Proteína do choque térmico cognata 71 kDa	3	71,240	7,40	0,35	0,003		
Q9BGI3	PRDX2	Peroxirredoxina 2	2	21,946	14,60	1,32	0,004		
P00171	CYB5A	Citocromo b5	5	15,329	45,50	0,36	0,004		
Q3ZBF6	ACADS	Acil-Co-A desidrogenase de cadeia curta específica	5	44,552	15,50	0,36	0,005		
F1MM82	SLC39A10	Família transportadora de soluto 39 membro 10	1	94,305	2,20	0,44	0,006		
Q3SZJ4	PTGR1	Prostaglandina redutase 1	3	35,706	9,40	0,50	0,006		
P50227	SULT1A1	Sulfotransferase 1A1	5	33,987	21,40	0,33	0,008		
Q3T087	RPL11	Proteína ribossomal L11	1	20,252	7,90	0,58	0,011		
P80311	PPIB	Peptidil-prolil cis-trans isomerase B	4	23,743	19,90	0,45	0,012		
A5PKH3	FAH	Fumarilacetoacetase	5	46,121	12,60	0,71	0,024		
Q5E956	TPI1	Triosefosfato isomerase	9	26,689	49,40	0,28	0,027		
Q8HYJ9	FMO3	Flavina monooxigenase 3 hepática	4	60,092	8,80	0,32	0,028		
E1BQ33	КНК	Cetohexoquinase	1	37,766	3,50	0,33	0,030		
Q32LG3	MDH2	Malato desidrogenase, mitocondrial	9	35,668	36,40	0,31	0,031		
A4FUZ6	HSDL2	Hidroxiesteróide desidrogenase semelhante 2	1	45,232	3,10	1,72	0,038		
G3MYH2	LOC540707	Proteína não caracterizada	4	50,443	9,60	0,58	0,042		
P48644	ALDH1A1	Retinal desidrogenase 1	16	54,805	37,30	0,37	0,043		
A7YY67	ALDH1L1	10-formiltetrahidrofolato desidrogenase	24	98,737	37,40	0,33	0,043		
P02722; Q8SQH5; P32007	SLC25A4; SLC25A5; SLC25A6	Transportador de ADP/ATP 1; Transportador de ADP/ATP; Transportador de ADP/ATP 3	4	32,967	17,10	0,60	0,045		
Q2KII0	ADH6	Alcool desidrogenase 6 (classe 5)	4	39,846	17,10	0,46	0,045		
A5PKM0; Q9N0V4	GSTM1; GSTM2	Glutatione S-transferase Mu 1; proteína GSTM2 (Fragmento)	6	25,656	33,00	0,85	0,045		
Q3T0S5	ALDOB	Frutose-bisfosfato aldolase B	11	39,543	30,20	0,27	0,049		

Tabela 1 - Proteínas mais abundantes nas amostras de fígado de bovinos Nelore classificados como baixa eficiência alimentar, considerando p-valor < 0,05, identificadas pela abordagem LC-MS/MS.

¹Uniprot ID: código de identificação da proteína no banco de dados do UniprotKB; ²PU: número de peptídeos únicos identificados; ³PM: peso molecular da proteína em kDa; ⁴% SC: porcentagem da sequência da proteína coberta pelos peptídeos identificados; ⁵FC: *fold change* em log2 da razão entre a média de *LFQintensity* das replicatas biológicas de baixa e alta eficiência alimentar (BEA/AEA); ⁶p-valor: valor de significância do teste t.

Uniprot ID ¹	Gene	Nome da proteína	PU ²	PM ³	% SC ⁴	FC⁵	p-valor ⁶
Q27975	HSPA1A	Proteína do choque térmico 70 kDa 1A	4	70,258	12,20	-0,42	0,001
Q3SZK8	SLC9A3R1	Fator 1 de regulação da troca Na+-H+	2	39,603	9,20	-0,69	0,002
Q5E9F1	BCAP31	Proteína associada a receptor de célula B de 31 kDa	1	27,901	5,70	-0,90	0,005
F1MDC1	ENSBTAG00000015438	Proteína não caracterizada	4	166,910	3,50	-0,19	0,008
Q51597	BHMT	Betainahomocisteína S-metiltransferase 1	5	44,878	17,40	-0,96	0,012
E1BEG2	HNRNPA3	Proteína não caracterizada	1	39,650	5,80	-0,28	0,013
Q2KIE6	HMGCS2	Hidroximetil-glutaril-CoA sintase, mitocondrial	9	56,894	19,30	-0,40	0,014
P49951	CLTC	Cadeia pesada 1 da clatrina	1	189,940	1,00	-0,34	0,017
Q5E9P9	SHMT1	Serina hidroximetil-transferase, citosólica	11	52,977	26,70	-0,23	0,021
F1MQ37	MYH9	Proteína não caracterizada	3	227,100	6,20	-0,63	0,022
P52193	CALR	Calreticulina	8	48,038	24,90	-0,27	0,023
Q3B7M5	LASP1	Proteína constituída pelos domínios LIM e SH3	2	29,677	9,60	-0,38	0,025
Q3SZB7	FBP1	Frutose-1,6-bisfosfatase 1	5	36,728	21,90	-0,38	0,034
Q0IIL6	HSD17B4	17β-hidroxiesteróide desidrogenase tipo 4	9	79,772	18,50	-0,51	0,036
Q2HJ73	HIBCH	3-hidroxiisobutiril-CoA hidrolase, mitocondrial	2	43,349	6,20	-0,27	0,043
P81623	ERP29	Proteína 29 residente no retículo endoplasmático	3	28,806	20,20	-0,49	0,045
Q0P5K3	UBE2N	Enzima E2N conjugada à ubiquitina	1	17,138	7,20	-0,77	0,046
Q17QC0	PGRMC1	Receptor de progesterona componente de membrana 1	4	21,622	17,00	-0,67	0,048
E1BF59	PLEC	Plectina	2	527,520	0,60	-0,38	0,049

 Tabela 2 - Proteínas menos abundantes nas amostras de fígado de bovinos Nelore classificados como baixa eficiência alimentar, considerando p-valor < 0,05, identificadas pela abordagem LC-MS/MS.</th>

¹Uniprot ID: código de identificação da proteína no banco de dados do UniprotKB; ²PU: número de peptídeos únicos identificados; ³PM: peso molecular da proteína em kDa; ⁴% SC: porcentagem da sequência da proteína coberta pelos peptídeos identificados; ⁵FC: *fold change* em log2 da razão entre a média de *LFQintensity* das replicatas biológicas de baixa e alta eficiência alimentar (BEA/AEA); ⁶p-valor: valor de significância do teste t.

As PDAs foram agrupadas hierarquicamente, confirmando a separação em dois grupos distintos (AEA e BEA). Os níveis de abundância entre as amostras encontram-se representados pelo mapa de calor (Figura 8).



Figura 8 - Dendrograma representando agrupamento hierárquico não supervisionado das proteínas diferencialmente abundantes entre amostras de fígado de bovinos Nelore classificados como alta (AEA) e baixa eficiência alimentar (BEA).

Fonte: Própria autoria.

5.2.2. Abordagem GeLC-MS/MS

Nesta abordagem foram identificadas cinco PDAs (p < 0,05) entre os animais de BEA e AEA, sendo quatro mais abundantes nos animais menos eficientes, das quais uma correspondeu ao grupo de proteínas álcool desidrogenases, composto por três

isoformas, sendo que duas correspondem a fragmentos da mesma proteína, a álcool desidrogenase 1C (F1MZP8 e Q2T9S5) (Tabela 3).

Tabela 3 - Proteínas diferencialmente abundantes nas amostras de fígado de bovinos Neloreclassificados como baixa e alta eficiência alimentar, considerando p-valor < 0,05, identificadas pela</td>abordagem GeLC-MS/MS.

Uniprot ID ¹	Gene	Nome da proteína	PU ²	PM ³	% SC⁴	FC⁵	p- valor ⁶
Álcool							
desidrogenases							
F1MZP8	-	Proteína não caracterizada	1	41,702	32,00	0,93	0,006
Q2T9S5	ADH1C	Proteína ADH1C (Fragmento)	2	45,971	37,00		
F1MZN9	ADH6	Álcool desidrogenase 6	2	39,832	9,10		
P48644	ALDH1A1	Retinal desidrogenase 1	19	54,806	50,00	1,18	0,017
E1BCE2	MGC152010	UDP-glicuronosil- transferase	3	60,972	8,70	1,74	0,018
P31081	HSPD1	Proteína do choque térmico 60 kDa, mitocondrial	7	60,978	16,00	0,61	0,033
Q3SZB7	FBP1	Frutose-1,6-bifosfatase 1	3	36,741	10,00	-1,09	0,047

¹Uniprot ID: código de identificação da proteína no banco de dados do UniprotKB; ²PU: número de peptídeos únicos identificados; ³PM: peso molecular da proteína em kDa; ⁴% SC: porcentagem da sequência da proteína coberta pelos peptídeos identificados; ⁵FC (log2): *fold change* em log2 da razão entre a média de contagem de espectros normalizada (NSAF) das replicatas biológicas de baixa e alta eficiência alimentar (BEA/AEA); ⁶p-valor: valor de significância do teste t.

Observa-se que três PDAs identificadas na análise LC-MS/MS também apresentaram abundâncias significativamente distintas e com mesmo comportamento entre os animais de BEA e AEA pela estratégia GeLC-MS/MS. A álcool desidrogenase 6 (ADH6), inserida no grupo das proteínas álcool desidrogenases, mais abundante nos animais de baixa eficiência, bem como a retinal desidrogenase 1 (ALDH1A1), enquanto a frutose-1,6-bisfosfatase 1 (FBP1) foi menos abundante neste grupo.

5.3. Interação entre as proteínas diferencialmente abundantes

Com a ferramenta STRING obteve-se uma rede altamente significativa, com pvalor < 10⁻¹⁶, o que indica que as proteínas são pelo menos parcialmente conectadas biologicamente (Figura 9). A rede apresentou 42 nós (correspondentes às proteínas) e 61 arestas entre as proteínas, sendo que o número esperado de conexões para uma rede de tamanho similar, com proteínas aleatoriamente extraídas do genoma seria de 16. Apenas 11 proteínas não apresentaram interações com as demais.



Figura 9 - Rede de interação proteína-proteína das proteínas diferencialmente expressas no fígado de bovinos Nelore classificados como alta e baixa eficiência alimentar.

Os nós representam as proteínas diferencialmente expressas que estão identificadas com o símbolo dos genes codificadores. As linhas representam as conexões entre as proteínas. Fonte: Própria autoria.

5.4. Enriquecimento funcional para proteínas diferencialmente abundantes

As PDAs identificadas pela abordagem LC-MS/MS foram submetidas à análise de enriquecimento de termos ontológicos para os quais foram identificados 67 termos significativos com no mínimo cinco proteínas (p-ajust < 0,05). Os termos significativos (redundantes ou não) para estas ontologias estão apresentados integralmente nos apêndices A, B e C. Quatro destes termos corresponderam à função molecular e estão apresentados na figura 10. A maioria das proteínas classificadas nos termos atividade catalítica (GO:0003824) e atividade óxido-redutase (GO:0016491) foram mais abundantes no grupo de baixa eficiência alimentar.

Figura 10 - Termos enriquecidos (p-ajust < 0,05, corrigido pelo método de Bonferroni) para função molecular das proteínas hepáticas diferencialmente abundantes entre bovinos Nelore classificados quanto à eficiência alimentar.



A intensidade da cor dos círculos é proporcional à significância do termo enquanto o tamanho é proporcional ao número de proteínas identificadas em cada termo. Fonte: Própria autoria.

A ontologia PB apresentou 41 termos enriquecidos (p-ajust < 0,05), permanecendo com 28 após síntese semântica com o REVIGO (Figura 11). Os cinco processos não redundantes mais significativos foram regulação da qualidade biológica (GO:0065008), processo metabólico celular de cetonas (GO:0019752), processo catabólico celular (GO:0044248), processo metabólico de ácido monocarboxílico (GO:0032787), regulação negativa de processo biológico (GO:0048519) e regulação positiva de processo biológico (GO:0048518).



Figura 11 - Termos enriquecidos (p-ajust < 0,05, corrigido pelo método de Bonferroni) para processos biológicos após síntese semântica pelo Revigo das proteínas hepáticas diferencialmente abundantes entre bovinos Nelore de alta e baixa eficiência alimentar.

A intensidade da cor dos círculos é proporcional à significância do termo enquanto o tamanho é proporcional ao número de proteínas identificadas em cada termo. Fonte: Própria autoria.

O termo processo de oxidação-redução (GO:0055114) apresentou apenas proteínas mais abundantes nos animais de BEA, enquanto os processos desenvolvimento de sistema (GO:0048731), processo de organismo multicelular (GO:0032501), processo de desenvolvimento (GO:0032502), biogênese de componente celular (GO:0044085), regulação da transdução do sinal (GO:0009966) localização de macromoléculas (GO:0033036), localização de proteínas (GO:0008104), localização celular (GO:0051641), localização (GO:0051179) e transporte intracelular (GO:0046907) apresentaram predominantemente proteínas menos abundantes neste grupo. O processo regulação positiva da função molecular (GO:0044093), por sua vez, apresentou exclusivamente proteínas menos expressas nos animais de BEA.

Para componentes celulares 22 termos foram enriquecidos, restando 14 após a síntese semântica (Figura 12). Os termos não redundantes mais significativos foram vesícula (GO:0031982), citoplasma (GO:0005737), parte da região extracelular (GO:0044421), parte citoplásmica (GO:0044444) e proteínas ligadas a organelas com membranas (GO:0043227), sendo que estes cinco termos apresentaram proteínas mais expressas em ambos os grupos. Entretanto, foi observado predomínio de proteínas menos expressas nos animais de BEA nos seguintes termos: citosol (GO:0005829), retículo endoplasmático (GO:0005783), parte da membrana plasmática (GO:0044459), junção celular (GO:0030054), sistema de endomembranas (GO:0012505) e citoesqueleto (GO:0005856).

Figura 12 - Termos enriquecidos (p < 0,05, corrigido pelo método de Bonferroni) de componentes celulares após síntese semântica pelo Revigo das proteínas hepáticas diferencialmente abundantes entre bovinos Nelore de alta e baixa eficiência alimentar.



A intensidade da cor dos círculos é proporcional à significância do termo enquanto o tamanho é proporcional ao número de proteínas identificadas em cada termo. Fonte: Própria autoria.

As PDAs também foram submetidas à análise de enriquecimento de vias metabólicas, com base nas vias KEGG, sendo identificadas 17 vias significativas (p-ajust < 0,05) (Tabela 4). As vias Metabolismo de fármacos pelo citocromo P450 (00982), Metabolismo de xenobióticos pelo citocromo P450 (00980) e Metabolismo de tirosina (00350) apresentaram apenas proteínas mais abundantes no grupo de menor eficiência, enquanto Processamento de proteínas no retículo endoplasmático (04141) apresentou predomínio de proteínas menos abundantes neste grupo.

KEGG ID ¹	Descrição	NP	p-valor	p-ajust ²	Genes ³
01120	Metabolismo microbiano em diversos ambientes	8	7,11X10 ⁻¹⁰	2,02X10 ⁻⁰⁷	MDH2; ALDOB; FMO3; SHMT1; FBP1; FAH; SULT1A1; TPI1 PNP: FAH: BHMT: ALDOB:
01100	Vias metabólicas	14	5,34X10 ⁻⁰⁸	5,77X10 ⁻⁰⁶	SHMT1; <u>MDH2;</u> FBP1; <u>ADH6;</u> HSD17B4; <u>ALDH1A1; KHK;</u> <u>ACADS; TPI1;</u> HMGCS2
01200	Metabolismo do carbono	6	6,10X10 ⁻⁰⁸	5,77X10 ⁻⁰⁶	<u>ACADS; MDH2; ALDOB;</u> SHMT1; FBP1; <u>TPI1</u>
00051	Metabolismo da frutose e manose	4	5,08X10 ⁻⁰⁷	3,61X10 ⁻⁰⁵	<u>ALDOB;</u> FBP1; <u>TPI1; KHK</u>
04141	Processamento de proteínas no retículo endoplasmático	6	1,10X10 ⁻⁰⁶	6,26X10 ⁻⁰⁵	ERP29; BCAP31; CALR; <u>HSPA8;</u> HSPA1A; RRBP1
00010	Glicólise/Gliconeogênese	4	6,57X10 ⁻⁰⁶	3,11X10 ⁻⁰⁴	<u>ALDOB; ADH6; </u> FBP1; <u>TPI1</u>
05204	Carcinogênese química	4	8,05X10 ⁻⁰⁶	3,26X10 ⁻⁰⁴	ADH6; LOC540707; SULT1A1; GSTM2
00982	Metabolismo de fármacos pelo citocromo P450 Metabolismo de	3	1,58X10 ⁻⁰⁴	5,60X10 ⁻⁰³	ADH6; FMO3; GSTM2
00980	xenobióticos pelo citocromo P450	3	1,77X10 ⁻⁰⁴	5,60X10 ⁻⁰³	ADH6; LOC540707; GSTM2
04612	Processamento e apresentação de antígenos	3	3,76X10 ⁻⁰⁴	1,07X10 ⁻⁰²	CALR; <u>HSPA8;</u> HSPA1A
01230	Biossíntese de aminoácidos	3	4,28X10 ⁻⁰⁴	1,10X10 ⁻⁰²	ALDOB; SHMT1; TPI1
00670	One carbon pool by folate	2	6,45X10 ⁻⁰⁴	1,53X10 ⁻⁰²	SHMT1; <u>ALDH1L1</u>
00630	Metabolismo de glioxilato e dicarboxilato	2	1,15X10 ⁻⁰³	2,52X10 ⁻⁰²	SHMT1; MDH2
00650	Metabolismo do butanoato	2	1,25X10 ⁻⁰³	2,54X10 ⁻⁰²	ACADS; HMGCS2
00030	Via pentose-fosfato	2	1,36X10 ⁻⁰³	2,57X10 ⁻⁰²	ALDOB; FBP1
00270	Metabolismo de cisteína e metionina	2	2,32X10 ⁻⁰³	4,11X10 ⁻⁰²	BHMT; <u>MDH2</u>
00350	Metabolismo de tirosina	2	2,89X10 ⁻⁰³	4,82X10 ⁻⁰²	<u>ADH6; FAH</u>

 Tabela 4 - Vias metabólicas significativamente enriquecidas (p-ajust < 0,05) das proteínas hepáticas diferencialmente abundantes entre bovinos Nelore de alta e baixa eficiência alimentar.</th>

¹KEGG ID: Identificação da via metabólica conforme *Kyoto Encyclopedia of genes and Genomes* (KEGG); ²p-ajust: p-valor corrigido para testes múltiplos por FDR; ³Genes: símbolo dos genes correspondentes às proteínas diferencialmente abundantes. Os genes sublinhados correspondem às proteínas mais abundantes no grupo menos eficiente.

5.5. Redes de co-expressão por WGCNA

O pacote WGCNA, desenvolvido no ambiente R, foi utilizado para a análise de redes de co-expressão. As proteínas foram distribuídas em oito módulos identificados com cores distintas: turquesa (88 proteínas), azul (73), marrom (70), amarelo (38), verde (33), vermelho (25), preto (24), e cinza (25) (Figura 13). O módulo cinza, por sua vez, não é propriamente um módulo, nele são agrupadas aquelas proteínas que não se ajustaram a nenhum módulo de co-expressão.





Fonte: Própria autoria.

Os módulos foram correlacionados aos indicadores de eficiência alimentar CGR e CAR e três foram significativos (p < 0,10), marrom, vermelho e turquesa (Figura 14).

MEbrown	0.56 (0.056)	-0.53 (0.076)	1
MEyellow	0.41 (0.19)	-0.42 (0.17)	
MEblack	0.34 (0.28)	-0.34 (0.28)	- 0.5
MEgreen	0.18 (0.57)	-0.17 (0.6)	
MEblue	0.21 (0.51)	-0.2 (0.53)	
MEred	-0.6 (0.038)	0.66 (0.02)	0.5
MEturquoise	-0.68 (0.015)	0.64 (0.025)	
MEgrey	-0.22 (0.5)	0.16 (0.63)	-1
	CGR	CAR	

Figura 14 - Correlações entre os módulos de co-expressão de proteínas hepáticas e os indicadores de eficiência alimentar consumo e ganho residual (CGR) e consumo alimentar residual (CAR) de bovinos Nelore.

As correlações são apresentadas nos retângulos seguidas do p-valor entre parênteses. Módulos em destaque são significativamente correlacionados (p < 0,10) aos indicadores de eficiência alimentar. Fonte: Própria autoria.

Das 42 proteínas classificadas como diferencialmente expressas entre os grupos de BEA e AEA nas análises proteômicas, apenas sete não foram relacionadas aos módulos significativos. As proteínas betaina--homocisteína S-metiltransferase 1 (BHMT), frutose-1,6-bisfosfatase 1 (FBP1) e a proteína não caracterizada F1MQ37 (MYH9) foram inseridas no módulo amarelo; a proteína 29 residente no retículo endoplasmático (ERP29), proteína do choque térmico 70 kDa 1A (HSPA1A) e enzima E2N conjugada à ubiquitina (UBE2N) no módulo verde e a plectina (PLEC) no módulo preto. Entretanto, todas apresentaram correlações significativas com algum dos indicadores de eficiência alimentar (R2 > |0,60|; p < 0,05) (Apêndice D). Os módulos

significativos foram visualizados de forma conjunta pelo Cytoscape (versão 3.5.1), selecionando-se todas as conexões com peso superior a 5x10⁻⁴. Este valor foi selecionado para ser possível a visualização de pelo menos uma conexão entre duas proteínas (Figura 15).

Figura 15 - Conectividade entre os módulos correlacionados significativamente (p < 0,10) com eficiência alimentar.



Os círculos representam os genes codificadores das proteínas. As linhas representam as conexões (peso > 5x10⁻⁰⁴). Os genes em destaque correspondem às proteínas diferencialmente abundantes (PDA) entre bovinos Nelore de baixa e alta eficiência. Fonte: Própria autoria.

Dentre os módulos significativamente associados ao fenótipo de eficiência alimentar, o vermelho foi o que apresentou maior correlação entre os valores de MM

e a KIN das proteínas, seguido pelo marrom, sendo que o turquesa apresentou menor correlação entre estas medidas, mas ainda assim altamente significativa, conforme pode ser observado na figura 16.





A: Turquesa; B: Marrom; C: Vermelho. Fonte: Própria autoria.

No módulo turquesa, que foi correlacionado negativamente com CGR e positivamente com CAR foram classificadas 88 proteínas das quais 18 foram mais abundantes nos animais de BEA, conforme análise proteômica diferencial. Das 88 proteínas, 34 foram fortemente filiadas ao módulo, com valor de MM superior à 0,60 (p-valor < 0,05), sendo 14 delas significativas para algum dos indicadores de eficiência alimentar (SP > |0,60| e p-valor < 0,05), das quais 12 são PDAs. As cinco proteínas com maiores MM e SP > |0,60| (p-valor < 0,05), simultaneamente, são PDAs, sendo que a prostaglandina redutase 1 (PTGR1) também está entre as cinco proteínas com maior KIN neste módulo (Apêndice E). As proteínas mais fortemente associadas ao módulo turquesa e suas conexões estão apresentadas na figura 17.



Figura 17 - Conectividade das proteínas hepáticas de bovinos Nelore co-expressas no módulo turquesa.

Os círculos representam genes das proteínas com valor de filiação ao módulo (MM) superior à 0,60 (p-valor < 0,05), sendo o tamanho do círculo proporcional ao MM. As linhas representam as conexões (peso > 0,001) entre as proteínas, onde a espessura da linha é proporcional ao peso da conexão RB: proteínas que apresentam relevância biológica para eficiência alimentar, considerando valor de significância da proteína > 0,60 (p-valor < 0,05) para pelo menos um indicador; PDA: proteínas diferencialmente abundantes entre animais dos grupos de baixa e alta eficiência alimentar (p-valor < 0,05). Fonte: Própria autoria.

A análise de enriquecimento de vias metabólicas, com base nas vias KEGG, para o módulo turquesa identificou 11 vias significativas (p-ajust < 0,05) (Tabela 5). Destas, nove vias são as mesmas identificadas na análise para as PDAs, incluindo Metabolismo de fármacos pelo citocromo P450 (00982), que havia apresentado representantes exclusivamente mais abundantes no grupo de animais de BEA.

KEGG ID ¹	Descrição	NP	p-valor	p-ajust ²	Genes ³			
01100	Vias metabólicas	14	1,36X10 ⁻⁰⁹	3,85X10 ⁻⁰⁷	FAH; ALDOB; DPYS; HADHB; PSAT1; COX5A; MTHFD1; ADH6; ACADL; ADH4; EPHX2; KHK; ACADS; TPI1			
01120	Metabolismo microbiano em diversos ambientes	7	3,84X10 ⁻⁰⁹	5,45X10 ⁻⁰⁷	PSAT1; <u>ALDOB; FMO3; FAH;</u> EPHX2; <u>TPI1</u> ; HADHB			
00071	Degradação de ácidos graxos	5	7,27X10 ⁻⁰⁹	6,88X10 ⁻⁰⁷	ACADL; <u>ADH6;</u> ADH4; <u>ACADS</u> ; HADHB			
00010	Glicólise/Gliconeogênese	4	2,45X10 ⁻⁰⁶	1,74X10 ⁻⁰⁴	<u>ALDOB; ADH6;</u> ADH4; <u>TPI1</u>			
00051	Metabolismo de frutose e manose	3	1,78X10 ⁻⁰⁵	1,01X10 ⁻⁰³	ALDOB; TPI1; KHK			
01200	Metabolismo de carbono	4	2,16X10 ⁻⁰⁵	1,02X10 ⁻⁰³	PSAT1; <u>ACADS</u> ; <u>ALDOB;</u> <u>TPI1</u>			
00350	Metabolismo de tirosina	3	3,32X10 ⁻⁰⁵	1,35X10 ⁻⁰³	<u>ADH6;</u> ADH4; <u>FAH</u>			
01212	Metabolismo de ácidos graxos	3	6,74X10 ⁻⁰⁵	2,39X10 ⁻⁰³	ACADS; ACADL; HADHB			
00982	Metabolismo de fármacos pelo citocromo P450	3	7,62X10 ⁻⁰⁵	2,40X10 ⁻⁰³	<u>ADH6;</u> <u>FMO3;</u> ADH4			
01230	Biossíntese de aminoácidos	3	2,08X10 ⁻⁰⁴	5,91X10 ⁻⁰³	<u>ALDOB;</u> PSAT1; <u>TPI1</u>			
00670	One carbon pool by folate	2	3,98X10 ⁻⁰⁴	1,03X10 ⁻⁰²	MTHFD1; <u>ALDH1L1</u>			

Tabela 5 - Vias metabólicas significativamente enriquecidas (p-ajust < 0, 05) das proteínas hepáticas</th>de bovinos Nelore co-expressas no módulo turquesa.

¹KEGG ID: Identificação da via metabólica conforme *Kyoto Encyclopedia of genes and Genomes* (KEGG); ²p-ajust: p-valor corrigido para testes múltiplos por FDR; ³Genes: símbolo dos genes correspondentes às proteínas diferencialmente abundantes. Os genes sublinhados correspondem às proteínas diferencialmente abundantes entres os grupos de baixa e alta eficiência alimentar, sendo todas mais abundantes no grupo menos eficiente.

O módulo vermelho também foi correlacionado negativamente com CGR e positivamente com CAR e, das 25 proteínas classificadas neste módulo, 17 apresentaram MM maior que 0,60 (p-valor < 0,05). Cinco PDAs foram distribuídas neste módulo e apenas a purina nucleosideo fosforilase (PNP) apresentou MM inferior ao limite determinado (MM = 0,58; p-valor = 0,047), contudo seu valor de SP foi elevado para os dois indicadores, sendo negativamente correlacionada com CGR (SP = -0,76; p-valor = 0,004) e positivamente com CAR (SP = 0,76; p-valor = 0,004) (Figura 16). A proteína rab-7a relacionada à Ras (RAB7A5) foi a única proteína biologicamente significativa para eficiência alimentar, sendo positivamente associada ao CAR (SP = 0,67; p-valor = 0,016), não diferencialmente abundante pela análise proteômica, porém também a única entre as cinco de maior KIN neste módulo. Todas as proteínas significativas para o módulo vermelho estão listadas no apêndice F. As proteínas significativamente associadas ao módulo vermelho estão apresentadas na figura 18.



Figura 18 - Conectividade das proteínas hepáticas de bovinos Nelore co-expressas no módulo vermelho, significativamente correlacionado à eficiência alimentar.

Os círculos representam genes das proteínas com valor de filiação ao módulo (MM) superior à 0,60 (p-valor < 0,05), sendo o tamanho do círculo proporcional ao MM. As linhas representam as conexões (peso > 0,001) entre as proteínas, onde a espessura da linha é proporcional ao peso da conexão. RB: proteínas que apresentam relevância biológica para eficiência alimentar, considerando valor de significância da proteína > 0,60 (p-valor < 0,05) para pelo menos um indicador; PDA: proteínas diferencialmente abundantes entre animais dos grupos de baixa e alta eficiência alimentar (p-valor < 0,05). Fonte: Própria autoria.

Para o módulo vermelho sete vias metabólicas foram enriquecidas, das quais seis foram comuns às vias enriquecidas para as PDAs, sendo Metabolismo do retinol (00830) a única via não observada para as PDAs e a Via da pentose-fosfato (00030) as únicas que não estavam presentes no módulo turquesa (Tabela 6).

KEGG ID ¹	Descrição	NP	p-valor	p-ajust ²	Genes ³			
01100	Vias metabólicas	8	1,94X10 ⁻⁰⁶	5,51X10 ⁻⁰⁴	MDH2; AOX1; ADH1C; CKB; RGN; ADK; <u>ALDH1A1;</u> TKT			
01120	Metabolismo microbiano em diversos ambientes	4	6,37X10 ⁻⁰⁶	9,04X10 ⁻⁰⁴	RGN; <u>MDH2;</u> AOX1; TKT			
00830	Metabolismo de retinol	3	1,16X10 ⁻⁰⁵	1,10X10 ⁻⁰³	<u>ALDH1A1;</u> ADH1C; AOX1			
01200	Metabolismo de carbono	3	7,85X10 ⁻⁰⁵	5,57X10 ⁻⁰³	RGN; <u>MDH2;</u> TKT			
00030	Via pentose-fosfato	2	2,19X10 ⁻⁰⁴	1,24X10 ⁻⁰²	RGN; TKT			
00350	Metabolismo de tirosina	2	4,70X10 ⁻⁰⁴	2,22X10 ⁻⁰²	ADH1C; AOX1			
00982	Metabolismo de fármacos pelo citocromo P450	2	8,14X10 ⁻⁰⁴	3,30X10 ⁻⁰²	ADH1C; AOX1			

Tabela 6 - Vias metabólicas significativamente enriquecidas (p-ajust < 0,05) das proteínas hepáticas</th>de bovinos Nelore co-expressas no módulo vermelho.

¹KEGG ID: Identificação da via metabólica conforme *Kyoto Encyclopedia of genes and Genomes* (KEGG); ²p-ajust: p-valor corrigido para testes múltiplos por FDR; ³Genes: símbolo dos genes correspondentes às proteínas diferencialmente abundantes. Os genes sublinhados correspondem às proteínas diferencialmente abundantes entres os grupos de baixa e alta eficiência alimentar, sendo todas mais abundantes no grupo menos eficiente.

O módulo marrom apresentou 71 proteínas sendo 32 com valores de MM elevados (> 0,60 e p-valor < 0,05) (Apêndice G). Destas, 10 são PDAs, de 12 presentes no módulo, todas de menor abundância nos animais de BEA. A 3-hidroxiisobutiril-CoA hidrolase, mitocondrial (HIBCH) apresentou SP > |0,60| (p-valor < 0,05) apenas para CGR. As duas que apresentaram MM inferior ao mínimo estabelecido foram a proteína associada a receptor de célula B de 31 kDa (BCAP31) (MM = 0,48; p-valor = 0,11) e serina hidroximetil-transferase, citosólica (SHMT1) (MM = 0,31; p-valor = 0,33), entretanto ambas apresentaram SP significativas (SP > |0,60| e p-valor < 0,05) para os dois indicadores de eficiência alimentar. A figura 19 apresenta as proteínas com MM superior à 0,60 (p-valor < 0,05).



Figura 19 - Conectividade das proteínas hepáticas de bovinos Nelore co-expressas no módulo marrom, significativamente correlacionado à eficiência alimentar.

Os círculos representam genesas proteínas com valor de filiação ao módulo (MM) superior à 0,60 (p-valor < 0,05), sendo o tamanho do círculo proporcional ao MM. As linhas representam as conexões (peso > 0,001) entre as proteínas, onde a espessura da linha é proporcional ao peso da conexão. RB: proteínas que apresentam relevância biológica para eficiência alimentar, considerando valor de significância da proteína > 0,60 (p-valor < 0,05) para pelo menos um indicador; PDA: proteínas diferencialmente abundantes entre animais dos grupos de baixa e alta eficiência alimentar (p-valor < 0,05). Fonte: Própria autoria.

Das cinco vias metabólicas enriquecidas no módulo marrom, que foi positivamente correlacionado com CGR e GPR e negativamente com CAR, três foram comuns às PDAs, destacando-se a via Processamento de proteínas no retículo endoplasmático (04141), que teve predomínio de proteínas menos abundantes nos animais de BEA (Tabela 7).

KEGG ID ¹	Descrição	NP	p-valor	p-ajust ²	Genes ³
01100	Vias metabólicas	10	8,48X10 ⁻⁰⁶	2,41X10 ⁻⁰³	ACSM2A; GRHPR; ACY1; LAP3; RDH16; PGM2; DHRS4; <u>HSD17B4</u> ; LDHB; <u>HMGCS2</u>
00480	Metabolismo da glutationa	3	6,94X10 ⁻⁰⁵	9,85X10 ⁻⁰³	GSTA5; GSTA1; LAP3
04141	Processamento de proteínas no retículo endoplasmático	4	1,28X10 ⁻⁰⁴	1,21X10 ⁻⁰²	PDIA3; <u>CALR; RRBP1;</u> HSP90B1
04918	Síntese de hormônio da tireódie	3	1,74X10 ⁻⁰⁴	1,23X10 ⁻⁰²	ASGR1; ATP1A2; HSP90B1
00650	Metabolismo de butanoato	2	7,28X10 ⁻⁰⁴	4,13X10 ⁻⁰²	ACSM2A; <u>HMGCS2</u>

Tabela 7 ·	Vias metabólicas significativamente enriquecidas (p-ajust < 0,05)	das proteínas hepáticas
	de bovinos Nelore co-expressas no módulo marrom	

¹KEGG ID: Identificação da via metabólica conforme *Kyoto Encyclopedia of genes and Genomes* (KEGG); ²p-ajust: p-valor corrigido para testes múltiplos por FDR; ³Genes: símbolo dos genes correspondentes às proteínas diferencialmente abundantes. Os genes sublinhados correspondem às proteínas diferencialmente abundantes os grupos de baixa e alta eficiência alimentar, sendo todas menos abundantes no grupo menos eficiente.

6. DISCUSSÃO

O presente trabalho é parte de uma ampla linha de pesquisa que visa caracterizar os mecanismos envolvidos na determinação do fenótipo de eficiência alimentar em bovinos da raça Nelore. Nesta tese, verificou-se que o comportamento do proteoma dos animais de AEA e BEA é muito próximo quando observamos as análises de Pearson para as duas abordagens proteômicas, com correlações de moderadas a muito fortes entre animais de ambos os grupos. Os dados obtidos por LC-MS/MS por sua vez, apresentaram maior similaridade, o que pode ser justificado pelo fato dessas amostras passarem por menos etapas de processamento. Além das técnicas de digestão e separação dos peptídeos diferirem entre as duas metodologias, embora ambos espectrômetros de massas utilizados apresentem alta acurácia e resolução, também são distintos quanto às tecnologias de análise e detecção dos espectros. Estas diferenças também podem explicar as fortes correlações observadas entre as amostras analisadas por LC-MS/MS e moderadas correlações entre as amostras analisadas por GeLC-MS/MS, sugerindo menor variabilidade na primeira análise. Por outro lado, tanto na PCA como no agrupamento hierárquico dos proteomas obtidos por ambas as abordagens se observa maior dispersão entre as amostras do grupo de BEA, sugerindo maior variabilidade nestes animais. Bottje et al. (2017b) também observaram este comportamento em análise de expressão gênica diferencial do músculo esquelético de frangos de corte divergentes para EA, com aves menos eficientes apresentando maior dispersão que as mais eficientes.

As análises proteômicas diferenciais revelaram mudanças significativas na abundância relativa de proteínas entre os animais de BEA e AEA para ambas as abordagens, sendo identificadas 42 PDAs com LC-MS/MS e cinco PDAs para os dados obtidos por GeLC-MS/MS. As abordagens apresentaram três PDAs em comum, a álcool desidrogenase 6 (classe 5) (ADH6), a retinal desidrogenase 1 (ALDH1A1), ambas mais abundantes nos animais menos eficientes, e a frutose-1,6-bifosfatase 1 (FBP1), menos abundante nos animais de BEA, demonstrando por técnicas distintas a relação entre a abundância das proteínas hepáticas e o fenótipo de EA. Na análise de redes de co-expressão elaboradas a partir do WGCNA com o banco de proteínas identificadas pelo método LC-MS/MS, três módulos apresentaram elevadas correlações com os indicadores de eficiência alimentar abordados. O módulo marrom

foi positivamente associado ao CGR e negativamente ao CAR, sendo assim, diretamente relacionado à maior eficiência, enquanto os módulos turquesa e vermelho com comportamento inverso foram diretamente associados à menor eficiência. Das 42 PDAs identificadas, 35 foram distribuídas entre os módulos significativos, sendo que as proteínas mais abundantes em BEA foram classificadas entre os módulos turquesa e vermelho, e as de menor abundância neste grupo no módulo marrom.

As proteínas associadas a menor eficiência relacionaram-se ao metabolismo lipídico, com proteínas envolvidas na síntese lipídica, confirmando o maior potencial em deposição de gordura corporal por esses animais. Também foi observado enriquecimento de degradação de ácidos graxos, que por sua vez pode indicar maior demanda energética, sendo que outras vias associadas ao metabolismo energético também foram enriquecidas, ou maior peroxidação lipídica em decorrência do excesso de formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), já que também apresentou enriquecimento para o metabolismo oxidativo, incluindo proteínas que atuam no combate ao estresse oxidativo celular. Também foram associadas ao sistema do citocromo P450 (Cit p450), relacionado à degradação de substâncias tanto endógenas como externas ao organismo com potencial toxicidade. Por outro lado, maior EA foi relacionada ao processamento e enovelamento proteico, bem como proteínas que atuam na manutenção do citoesqueleto, indicando maior capacidade em reestruturar as células após os danos oxidativos e de outras naturezas, como no combate a infecções.

Em estudo anterior realizado com os mesmos animais analisados no presente trabalho, Alexandre et al. (2015) relataram que não houve diferença no ganho de peso corporal entre os grupos BEA e AEA, mas observaram maior ingestão de matéria seca desde o início do período de confinamento e aumento nos níveis plasmáticos de gama glutamil transpeptidase (GGT) nos períodos finais para animais menos eficientes. Os autores também encontraram maior deposição de gordura visceral e subcutânea e maior expressão de genes associados à síntese lipídica no grupo de BEA. Além disso, animais de ambos os grupos apresentaram infiltrado mononuclear na tríade portal, mas em níveis mais elevados nos animais menos eficientes (ALEXANDRE et al., 2015). Com base nessas observações e outros comportamentos, os autores hipotetizaram que os bovinos menos eficientes apresentam maior suscetibilidade à inflamação devido a alterações no metabolismo lipídico e / ou pelo aumento de

infecções devido ao maior consumo de ração. Assim, os resultados da abordagem proteômica do presente estudo foram condizentes com alguns desses achados.

A via "Metabolismo microbiano em diversos ambientes" foi a mais enriquecida para as PDAs, com predomínio de proteínas mais abundantes nos animais menos eficientes, e a segunda via mais enriquecida para os módulos turquesa e vermelho. Essa via apresentou proteínas principalmente relacionadas ao metabolismo de carboidratos, aminoácidos, lipídios e vitaminas. Entretanto, também podem ser destacadas proteínas associadas ao metabolismo de fármacos e xenobióticos pelo Cit P450. O fígado é o primeiro local de contato para componentes microbianos, toxinas endógenas e exógenas presentes no sangue portal, sendo também responsável pela resposta imune inicial (ABU-SHANAB; QUIGLEY, 2010). Enriquecimento da via "Processo e apresentação de antígenos" também foi observado para as PDAs, sendo que esta via e processos relacionados já foram associados à eficiência alimentar (GONDRET et al., 2017; KARISA et al., 2013; VINCENT et al., 2015). Duas proteínas inseridas nesta rota pertencem à família das proteínas do choque térmico 70 kDa (HSP70), a HSP70 membro 8 (HSPA8), mais abundante no grupo de BEA, e a HSP70 membro 1A (HSPA1A), menos abundante nestes animais. Estas chaperonas atuam na proteção do proteoma sob estresse, formação e dissociação de complexos proteicos, correção de proteínas mal-enoveladas, direcionamento de proteínas para degradação. Também participam da resposta inflamatória, sendo que a superexpressão das HSP70 foi relacionada à regulação da expressão de citocinas induzidas por lipopolissacarídeos (LPS) em ratos infectados experimentalmente com adenovírus Ad70 (DOKLADNY et al., 2010).

Outras proteínas envolvidas na resposta imunológica foram associadas à menor EA. A chaperona peptidil-prolil cis-trans isomerase B (PPIB), também conhecida por ciclofilina B, rotamase B ou S-ciclofilina. Dentre os papéis desempenhados por esta proteína está a participação no enovelamento da imunoglobulina G, onde atua acelerando o processo (FEIGE et al., 2009). Em um estudo realizado por Deist et al. (2017) sobre a susceptibilidade de diferentes linhagens de frango à infecção pelo vírus *Newcastle* com base no perfil transcriptômico do pulmão, o gene PPIB apresentou maior expressão no período de 10 dias pós infecção em aves da linhagem *Fayoumis*, comparadas ao grupo controle (não desafiado). Dentre as proteínas identificadas no módulo vermelho, a proteína

rab-7a relacionada à Ras (RAB7A5) foi a única biologicamente significativa para eficiência alimentar não identificada como diferencialmente abundante. Esta proteína é um regulador chave do transporte endo-lisossomal, participando de diversos processos metabólicos como metabolismo lipídico, maturação e acidificação de fagossomos, bem como na fusão destes com os lisossomos, além de também apresentar papel relevante na infecção e sobrevivência de patógenos microbianos e participação no ciclo de vida de diversos tipos virais (CANTALUPO et al., 2001; LIZASO; TAN; LEE, 2013). Cheng et al. (2012) observaram que o bloqueio da RAB7A, e da RAB5 tem impacto na expressão proteica e no rendimento do vírus da febre efêmera bovina.

As análises de enriquecimento de processos e vias metabólicas revelaram duas proteínas mais abundantes nos animais menos eficientes e co-expressas nos módulos negativamente correlacionados à EA do metabolismo de carboidratos, mas que também foram relacionadas à síntese lipídica. Uma delas é a cetohexoquinase (KHK), classificada no módulo turquesa, e a supressão da expressão do gene KHK no fígado de camundongos alimentados com frutose ocasionou redução na expressão de enzimas que atuam na síntese de ácidos graxos (SOFTIC et al., 2017). A outra proteína, a malato desidrogenase, mitocondrial (MDH2), foi inserida no módulo vermelho. Esta é uma enzima chave no ciclo do ácido cítrico e sua redução em camundongos obesos foi associada à perda de peso corporal (PARRAY; YUN, 2015). Em concordância com estes resultados, estudos anteriores também associaram maior teor de gordura corporal à menor eficiência em bovinos (BASARAB et al., 2003; HERD et al., 2014; LINES et al., 2014; WEBER et al., 2016). Outra proteína classificada no módulo vermelho também foi associada ao metabolismo lipídico, a hidroxiesteróide desidrogenase semelhante 2 (HSDL2) que, embora seja uma oxidorredutase pouco descrita, apresenta um domínio de proteína carreadora de esteróis 2 (SCP2) que está envolvido no transporte e metabolismo de lipídios, incluindo o colesterol, sugerindo a participação desta proteína nestas vias (GRONEMEYER et al., 2013; KOWALIK et al., 2009; LI; FAN; PAPADOPOULOS, 2016; SKOGSBERG et al., 2008; VAN VELDHOVEN, 2010). Em estudo sobre EA, Olivieri et al. (2016) identificou o gene HSDL2 como candidato para este fenótipo na região genômica BTA8 em bovinos Nelore. A BTA8 também foi relacionada à EA por Santana et al. (2014b) e Lu et al. (2013), sendo que vários QTLs associados ao CAR, IMS e GMD foram detectados nesta região por Seabury et al. (2017).

relacionada Ainda ao metabolismo de carboidratos. via а glicolítica/gliconeogênica, uma das mais relevantes rotas no metabolismo energético, também foi enriquecida para as PDAs, com predomínio de proteínas mais abundantes no grupo de BEA e para o módulo turquesa. Conforme estudos realizados por Tavakoli et al. (2013; 2017), a polarização de macrófagos estimulada por LPS promove aumento na absorção de glicose e na glicólise, dando preferência a esta via para suprir a demanda energética dos processos pro-inflamatórios em vez da fosforilação oxidativa. Representantes da família das álcool-desidrogenases (ADHs) associadas à menor eficiência alimentar também foram inseridas na via glicolítica / gliconeogênica. Além da ADH6 e da álcool desidrogenase 4 (ADH4), co-expressas no módulo turquesa, a proteína não caracterizada F1MZP8 que se refere ao fragmento da álcool desidrogenase 1C, classificada no módulo vermelho e que foi descrita no grupo das ADHs identificado por GeLC-MS/MS, também atuam no metabolismo de co-produtos da degradação da tirosina, que foi enriquecido tanto para as PDAs como para os módulos turquesa e vermelho. A degradação deste aminoácido, por sua vez, pode levar à formação de fumarato e acetoacetato, que podem ser direcionados ao ciclo do ácido cítrico, sendo assim relacionada ao metabolismo energético (MAK et al., 2013).

As vias de metabolismo e degradação de ácidos graxos também foram superrepresentadas para o módulo turquesa, destacando-se enzimas das famílias acyl-coA desidrogenases (ACADs) e ADHs. As enzimas ACADs catalisam a desidrogenação de ésteres acil-CoA, primeiro passo na degradação do ciclo mitocondrial da betaoxidação. A degradação de ácidos graxos é uma importante via de produção de energia celular em forma de ATP, principalmente para tecidos que possuem elevada demanda metabólica, como é o caso do fígado, principal órgão envolvido na regulação da homeostase em mamíferos (GHOSH et al., 2016). Os ácidos graxos são liberados na corrente sanguínea a partir do tecido adiposo e absorvidos pelos hepatócitos, onde serão oxidados para produção de ATP que, por sua vez, atuará como fonte energética ou poderá ser convertido em diversas moléculas lipídicas e seus derivados (XU; LIN; QIN, 2008). O enriquecimento destas vias associadas à produção de energia sugere que os animais menos eficientes apresentam maior demanda energética que os animais mais eficientes.

As ADHs e a ALDH1A também atuam no metabolismo do ácido retinóico, que foi enriquecido para o módulo vermelho. As ADHs são responsáveis pela oxidação do retinol à retinaldeído, que é oxidado de forma irreversível pelas aldeídodesidrogenases (ALDHs) para síntese de ácido retinóico. Estas proteínas e o retinol ainda atuam na regulação da diferenciação, crescimento e migração de células do sistema imunológico. Recentemente, Cho et al. (2016) comprovaram a ação antiviral de enzimas destas famílias, incluindo as isoformas ADH4, ADH6 e ALDH1A1, frente ao vírus da hepatite C. O retinol e seus metabólitos são relacionados ao controle da adipogênese e homeostase energética, com efeito em várias doenças, inclusive obesidade (VILLARROYA; IGLESIAS; GIRALT, 2004; KIEFER et al., 2012). Outra enzima associada ao metabolismo do retinol, a UDP-glicuronosil-transferase (MGC152010), identificada pela abordagem GeLC-MS/MS, foi mais abundante nos animais de BEA. O ácido retinóico é metabolizado por enzimas do Cit P450 e UGTs, sendo que a catálise destas últimas resulta na formação do metabólito ativo all-transretinoyl-beta-glucuronide (BARUA; SIDELL, 2004). Corroborando com estes resultados e comprovando a relevância do metabolismo do retinol para eficiência alimentar, ao analisar o metaboloma sérico do período de 21 dias antes do confinamento de bovinos Nelore, incluindo os animais avaliados no presente trabalho, Novais (2017) identificou este metabólito em um dos módulos de co-expressão correlacionado positivamente ao CAR (r = 0.52, p-valor < 0.01). Ainda, Salleh et al. (2017) observaram uma superregulação da via do metabolismo do retinol ao analisar o transcriptoma hepático de animais da raça Jersey menos eficientes, identificando o gene ALDH1A1 nesta via.

As ADHs e ALDHs também participam do Cit P450, um dos mais relevantes complexos envolvidos nos processos de detoxificação em mamíferos. Vias relacionadas a este sistema foram enriquecidas para as PDAs, exclusivamente representadas por proteínas mais abundantes em BEA, e para os módulos turquesa e vermelho. Outras PDAs presentes no módulo turquesa relacionadas a este sistema foram a flavina monooxigenase 3, hepática (FMO3), proteína não caracterizada G3MYH2 (LOC540707, CYP2A13), glutationa S transferase Mu 1, 2 (GSTM1, GSTM2) e sulfotransferase 1A1 (SULT1A1). A citocromo b5A (CYB5A), também classificada no módulo turquesa, foi a proteína mais fortemente associada aos indicadores de EA neste módulo. Ela interage com diversos membros da superfamília

do Cit P450, modulando a atividade destas enzimas por distintos mecanismos (BHATT et al., 2017).O metabolismo de fármacos e xenobióticos pelo sistema da Cit P450 já foi associado à eficiência alimentar em bovinos da raça Nelore (TIZIOTO et al., 2016) e taurinos (CHEN et al., 2011; CONNOR et al., 2010; FOOTE et al., 2017; KHANSEFID et al., 2017). Nos animais, os processos de respiração mitocondrial, metabolismo de xenobióticos, inflamação, dentre outros, geram agentes oxidantes que contribuem para a formação de EROs (SINGH et al., 2013), sendo as mitocôndrias e enzimas do Cit P450 as principais fontes nos hepatócitos expostos a agentes causadores de lesões de forma aguda ou cronicamente (LOGUERCIO; FEDERICO, 2003).

Os termos enriquecidos associados à oxido-redução para as PDAs também apresentaram principalmente proteínas mais expressas no grupo de BEA. Alexandre et al. (2015) observaram enriquecimento do processo de óxido-redução em módulo de co-expressão negativamente associado à eficiência alimentar, enquanto Tizioto et al. (2015) sugeriram aumento no metabolismo oxidativo em bovinos Nelore ineficientes e relacionaram esse aumento a possível incremento do estresse oxidativo nestes animais. O estresse oxidativo também já foi associado à menor eficiência alimentar em outras espécies de animais de produção como aves e suínos (BOTTJE; CARSTENS, 2009; GRUBBS et al., 2013; IQBAL et al., 2005; KONG et al., 2011). Os radicais livres apresentam papel relevante no organismo, atuando nos processos de fagocitose e em reações como hidroxilação, carboxilação, peroxidação e na redução de ribonucleotídeos, além de atuarem como moléculas de sinalização (DURACKOVÁ, 2010). Contudo, quando em excesso, podem ocasionar danos às moléculas celulares caso o sistema antioxidante não seja capaz de neutralizá-los, levando à prejuízos irreversíveis, com consequente morte celular por processos apoptóticos ou necróticos (DURACKOVÁ, 2010; HUSSAIN et al., 2016). O estresse oxidativo é uma condição fisiológica que decorre da produção excessiva de radicais livres e metabólitos reativos como EROs e espécies reativas de nitrogênio.

Outras proteínas com atuação durante o estresse oxidativo foram mais abundantes nos animais menos eficientes e associadas ao módulo turquesa, dentre elas a 10-formil tetrahidrofolato desidrogenase (ALDH1L1), fumarilacetoacetase (FAH), peroxirredoxina 2 (PRDX2) e prostaglandina redutase 1 (PTGR1). A atividade da FAH está relacionada à prevenção de danos oxidativos de hepatócitos, sendo que
mutações no gene que codifica esta enzima foi relacionado à elevada mortalidade em decorrência de falhas nos programas de morte celular induzidas por estresse oxidativo em humanos (STEPANOVA et al., 2010; VOGEL et al., 2004). A PRDX2 regula a proliferação celular e metabolismo de lipídeos, além de apresentar papel relevante na regulação de doenças inflamatórias e resposta imunológica (PARK et al., 2016), atuando como mediador do processo inflamatório dependente de reações redox e ativando macrófagos para produção e liberação de TNF-α (HUSSAIN et al., 2016). Recentemente, Senhaji et al. (2017) observaram maior expressão da proteína PRDX2 em amostras de sangue de indivíduos acometidos por doenças inflamatórias intestinais sem alteração nos níveis de transcritos. Estes autores ainda destacaram que, com base na literatura, a atuação desta enzima nos processos patológicos não apresenta um consenso, sendo relatadas participação tanto como protetiva como efetiva nas rotas envolvidas nos processos de inflamação e patogêneses.

A PTGR1, proteína que apresentou maior valor de filiação ao módulo turquesa, além de antioxidante, também atua nas respostas inflamatória e imunológica e na regulação da adipogênese (POULOS et al., 2016). Esta enzima multifuncional participa do metabolismo de prostaglandinas, atuando como redutase, e da oxidação de leucotrienos (LT), eicosanoides derivados do metabolismo do ácido araquidônico (FORMAN et al., 2008; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ et al., 2014), catalisando a oxidação do LTB4 à sua forma menos ativa, o 12-oxo-LTB4 (HAEGGSTRÖM; FUNK, 2011; POWELL; ROKACH, 2015; HUANG et al., 2016). Vale destacar que Novais (2017) identificou o metabólito 11-hydroxyeicosatetraenoate glyceryl ester, produto de uma das rotas do metabolismo do ácido araquidônico, bem como enriquecimento da via "Prostaglandina provinda do ácido araquidônico" para um módulo de co-expressão de metabólitos associado positivamente ao CAR, mais uma vez confirmando a complementariedade entre os dados proteômicos e metabolômicos. Além disso, Salleh et al. (2017) também observaram uma super-regulação do metabolismo do ácido araquidônico em bovinos Jersey menos eficientes. Estes resultados em conjunto reforçam o envolvimento do metabolismo do ácido araquidônico nas vias que determinam a eficiência alimentar em bovinos.

A peroxidação lipídica, uma das consequências do acúmulo de EROs no organismo, pode ocorrer mesmo sobre estresse mínimo e transiente, sendo as bicamadas lipídicas das membranas um dos primeiros alvos. A oxidação dos fosfolipídeos leva a formação de diversos produtos, sendo o *4-hydroxy-2-nonenal* (4-HNE) um dos mais estudados, obtido da oxidação de ácido linoleico, linoleato de metila, ácido gama-linolênico e ácido araquidônico (CHAUDHARY et al., 2010; SPICKETT, 2013). Chaudary et al. (2010) constataram que a 4-HNE induziu a sinalização para apoptose das rotas mediadas pelas proteínas p53 e Fas em hepatócitos e a super-regulação de proteínas HSP70. A detoxificação do 4-HNE tem sido associada à atuação de diversas enzimas incluindo algumas ADHs, ALDHs, enzimas do Cit P450, GSTs e PTGR1 (DICK et al., 2001; ZHENG et al., 2014), todas mais abundantes nos animais de menor eficiência.

Das 19 proteínas menos abundantes nos animais de BEA, 12 foram coexpressas no módulo marrom, sendo que apenas a proteína associada a receptor de célula B de 31 kDa (BCAP31) e a serina hidroximetil-transferase, citosólica (SHMT1) não foram significativas para o módulo, embora tenham sido correlacionadas fortemente aos indicadores de eficiência alimentar. Processos enriquecidos para PDAs associados à localização e transporte apresentaram principalmente proteínas menos abundantes em BEA, assim como os componentes celulares associados ao retículo endoplasmático (RE) e via metabólica de processamento de proteínas no RE, que também foi significativa para o módulo marrom. O RE é uma organela celular que controla a homeostase intracelular de Ca²⁺, síntese lipídica e enovelamento de proteínas. Este último processo é altamente sensível às alterações decorrentes do estado redox, níveis nutricionais e de Ca²⁺, taxa de síntese proteica, presença de patógenos ou estímulos inflamatórios, que podem resultar no acúmulo de proteínas desenoveladas ou enoveladas erroneamente, culminando no estresse do RE (ERE) (GIAMPIETRI et al., 2015; HIRSCH et al., 2014).

Classificada no módulo marrom, a PDA não caracterizada E1BEG2 pertence à família das ribonucleoproteínas nucleares heterogêneas, envolvidas no processamento e transporte de RNAm, transcrição, reparo e formação de DNA telomérico, sendo importantes reguladores cuja alteração nos padrões de expressão pode interferir em várias funções celulares (HAN; TANG; SMITH, 2010; PAPADOPOULOU et al., 2012). Outra proteína não caracterizada, a F1MDC1 referese ao gene RRBP1, codificador da proteína 1 de ligação de ribossomo, componente integral da membrana do RE que atua como receptor de ribossomos, no processo de tradução do RNAm e transporte de proteínas transmembrana (CHIVA; ORTEGA;

SABIDO, 2014). A chaperona BCAP31, que também é uma proteína integral de membrana de elevada abundância no RE, atua na degradação proteíca e exportação de proteínas do RE para o complexo golgiense, regulação da concentração de Ca²⁺ do RE, citosólica e mitocondrial, morte celular programada, além de atuação no rearranjo do citoesqueleto durante a apoptose (ADACHI et al., 1996; ANNAERT et al., 1997; CACCIAGLI et al., 2013; NAMBa et al. 2013; PAQUET et al., 2004). Outra chaperona menos abundante em BEA, a calreticulina (CALR), também participa da homeostase do cálcio e atua no enovelamento e estabilização de proteínas no RE (CACCIAGLI et al., 2013). Por estar envolvida na montagem e enovelamento de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade classe I (MHC-I), também é associada ao processo de apresentação de antígenos (RAGHAVAN et al., 2013).

Outras proteínas que apresentam relação com os processos de resposta do sistema imunológico foram associadas à maior EA. O fator 1 de regulação da troca Na⁺-H⁺ (NHERF1) pertence à família NHERF de moduladores que realizam interações entre proteínas e regulam a transdução de sinal intracelular (BRETSCHER et al., 2000; OH et al., 2004). Também foram relacionadas à regulação dos processos de sinalização e transporte endócrino dos receptores acoplados a proteína G (DUNN; FERGUSON, 2015), que apresentam papel relevante nas vias do processo inflamatório (SUN; YE, 2012). A clatrina, por sua vez, é uma proteína constituída por três cadeias leves e três cadeias pesadas, sendo que a cadeia pesada 1 da clatrina (CLTC) foi uma PDA classificada no módulo marrom. Esta proteína apresenta grande relevância na formação de vesículas, sendo que a entrada de vírus no organismo hospedeiro por via endocítica pode ocorrer tanto de maneira dependente da clatrina como de forma independente (CHENG et al., 2012). Jans et al. (2016) investigaram a atuação da clatrina e da actina na resposta imunológica à infecção pelo vírus sincicial respiratório em células humanas e constataram que os processos pós-endocíticos de aumento da expressão de MHC-II em monócitos, ativação de células T e liberação de IFN-γ são clatrina-dependentes. Por fim, a enzima E2N conjugada à ubiquitina (UBE2N), classificada no módulo preto, pertence à família das enzimas conjugadoras de ubiquitina E2 que atuam no passo intermediário do processo de ubiquitinação de proteínas, sendo esta modificação pós-traducional uma estratégia regulatória essencial tanto para a resposta imune inata como adaptativa (BHOJ; CHEN, 2009; LENTUCCI et al., 2017; POPOVIC; VUCIC; DIKIC, 2014).

Três proteínas estruturais também foram menos abundantes nos animais de BEA. Classificada no módulo marrom, a proteína constituída pelos domínios LIM e SH3 (LASP1) se liga à actina atuando na reorganização do citoesqueleto (WANG et al., 2009). Já a proteína não caracterizada F1MQ37, co-expressa no módulo amarelo, cujo gene codificador é o MYH9, é uma miosina não muscular que atua em rotas de manutenção da arquitetura celular, capacidade contrátil e motilidade. Esta proteína é expressa em células T e, após a detecção do antígeno por estas células, ocorre a fosforilação desta miosina com consequente inativação, sendo este um dos mecanismos sugeridos como forma de controle do sinal de parada das células T (JACOBELLI et al., 2004). Hays et al. (2014) observaram uma redução da expressão da MYH9 em glomérulo de camundongos transgênicos HIV-1. Os autores ainda constataram que a redução ao nível de proteína e de RNAm em podócitos humanos transduzidos com HIV-1 é uma etapa associada à resposta do organismo hospedeiro à nefropatia associada ao HIV. Já a plectina (PLEC), associada ao módulo preto, também atua na manutenção da integridade do citoesqueleto, apresentando sítios de ligação acessíveis à filamentos intermediários, microtúbulos e microfilamentos (CASTAÑÓN et al., 2013). Em estudo recente, Jirouskova et al. (2018) destacaram seu papel hepatoprotetor ao observarem uma superregulação desta proteína em quadros colestáticos em modelos animais, além de aumento de danos no fígado de camundongos com deleção do gene PLEC.

Duas proteínas associadas ao metabolismo lipídico co-expressas no módulo marrom foram biologicamente relevantes para EA. A 17β-hidroxiesteróide desidrogenase tipo 4 (HSD17B4) participa do metabolismo de ácidos graxos de cadeia longa e, em estudo sobre o crescimento compensatório, Connor et al. (2010) observaram maior expressão do gene HSD17B4, dentre outros relacionados ao metabolismo de ácidos graxos, no período de 1 dia após a realimentação de novilhos da raça Angus que foram submetidos à restrição alimentar. O receptor de progesterona componente de membrana 1 (PGRMC1), por sua vez, participa da regulação da síntese de colesterol e esteroides, homeostase heme, interação com enzimas do Cit P450, além de atuar na proteção do DNA em resposta ao estresse oxidativo e na supressão da apoptose (ROHE et al., 2010; PIEL et al., 2016). Esta proteína encontra-se acoplada à proteína G, sendo um dos receptores para progesterona. Bottje et al. (2017b) constataram em estudo da expressão gênica no

músculo esquelético do peito de frangos de corte que modificações na sinalização da progesterona foi fator chave para diferenças das aves quanto à eficiência alimentar.

Relacionada ao metabolismo do butanoato, enriquecido para as PDAs e para o módulo marrom, a proteína hidroximetil-glutaril-CoA sintase, mitocondrial (HMGCS2) é uma enzima limitante para cetogênese (NAKAMURA; YUDELL; LOOR, 2014). A FBP1, por sua vez, identificada como menos abundante nos animais de menor eficiência pelas duas abordagens proteômicas utilizadas, além de atuar no metabolismo de carboidratos, também foi relacionada ao metabolismo das cetonas. Visinoni et al. (2012) constataram que um aumento na expressão desta enzima no fígado de camundongos expostos ao excesso nutricional levou à redução da deposição de gordura corporal e do consumo alimentar em decorrência de aumento nos níveis de hormônios circulantes da saciedade colecistoquinina (CCK) e leptina, bem como nos níveis da cetona 3-beta-hydroxibutirate (BHB), sugerindo papel relevante desta enzima na regulação da adiposidade e do apetite. Ainda, em trabalho realizado anteriormente por este mesmo grupo, os autores relataram que os níveis de BHB foi positivamente relacionado aos níveis de CCK, constatando que as cetonas reduzem o consumo de alimento pelo estímulo de CCK (CHEARSKUL et al., 2008). Cheon et al. (2005) consideraram o gene HMGCS2 um dos mais induzidos no fígado de suínos em jejum, enquanto Doelman et al. (2012) observaram maior expressão do gene FBP1 no fígado de novilhas da raça Holandesa após 24h de restrição. Embora o processo metabólico celular de cetonas enriquecido para as PDAs tenha apresentado representantes mais abundantes em ambos os grupos avaliados, a menor abundância destas enzimas nos animais de BEA pode estar associada aos mecanismos responsáveis pela maior ingestão de matéria seca observada por Alexandre et al. (2015) para este grupo.

Com os resultados obtidos no presente trabalho com a abordagem proteômica, tanto com base nas análises de expressão diferencial como de co-expressão, podemos sugerir que os animais menos eficientes apresentam alterações nas vias relacionadas aos mecanismos de saciedade, o que os leva à maior ingestão de alimentos e, consequentemente, alterações no metabolismo lipídico. Estas alterações por sua vez, levam ao desequilíbrio homeostático celular, culminando em estresse oxidativo. Este estado fisiológico altera a capacidade de reação do organismo destes animais frente às possíveis infecções, levando ao maior gasto energético para manutenção da homeostase, desviando esta energia que poderia ser direcionada para maior ganho de peso. Ainda, embora o proteoma seja dinâmico e caracterize o tecido avaliado no momento de sua coleta, a compatibilidade entre os resultados obtidos nesta abordagem com os dados transcriptômicos e metabolômicos obtidos por Alexandre et al. (2015) e Novais (2017), respectivamente, nos permite supor que exista uma relação entre as vias expressas antes e ao final do confinamento. Isto comprova que a análise proteômica pode auxiliar no direcionamento da busca por marcadores associados à eficiência alimentar que possam ser precocemente identificados por técnicas menos invasivas e auxiliar tanto no manejo alimentar do rebanho, como na seleção de animais para programas de melhoramento.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos com o presente estudo confirmam que o proteoma hepático de bovinos Nelores menos eficientes apresenta diferenças quanto à expressão de determinadas proteínas em comparação aos animais mais eficientes. Ainda, a maioria das proteínas diferencialmente abundantes foram co-expressas nos módulos significativamente correlacionados com os indicadores de eficiência alimentar, sendo biologicamente relevantes para este fenótipo, sendo principalmente relacionadas ao metabolismo lipídico, processos oxidativos e detoxificação pelo sistema do citocromo P450 nos animais menos eficientes e associadas ao processamento de proteínas no retículo endoplasmático, manutenção do citoesqueleto e resposta imunológica nos animais mais eficientes.

REFERÊNCIAS

ABO-ISMAIL, M. K.; LANSINK, N.; AKANNO, E.; KARISA, B. K.; CROWLEY, J. J.; MOORE, S. S.; BORK, E.; STOTHARD, P.; BASARAB, J. A.; PLASTOW, G. S. Development and validation of a small SNP panel for feed efficiency in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. 2, p. 375–397, 2018.

ABO-ISMAIL, M. K.; VANDER VOORT, G.; SQUIRES, J. J.; SWANSON, K. C.; MANDELL, I. B.; LIAO, X.; STOTHARD, P.; MOORE, S.; PLASTOW, G.; MILLER, S. P. Single nucleotide polymorphisms for feed efficiency and performance in crossbred beef cattle. **BMC genetics**, v. 15, n. 1, p. 14, 2014.

ABU-SHANAB, A.; QUIGLEY, E. M. M. The role of the gut microbiota in nonalcoholic fatty liver disease. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 7, n. 12, p. 691–701, 2010.

ADACHI, T.; SCHAMEL, W. W.; KIM, K. M.; WATANABE, T.; BECKER, B.; NIELSEN, P. J.; RETH, M. The specificity of association of the IgD molecule with the accessory proteins BAP31/BAP29 lies in the IgD transmembrane sequence. **The EMBO Journal**, v. 15, n. 7, p. 1534–1541, 1996.

AHLF, D. R.; THOMAS, P. M.; KELLEHER, N. L. Developing top down proteomics to maximize proteome and sequence coverage from cells and tissues. **Current opinion in chemical biology**, v. 17, n. 5, p. 787–794, 2013.

ALEXANDRE, P. A.; GOMES, R. C.; SANTANA, M. H. A; SILVA, S. L.; LEME, P. R.; MUDADU, M. a.; REGITANO, L. C. A; MEIRELLES, F. V.; FERRAZ, J. B. S.; FUKUMASU, H. Bovine NR1I3 gene polymorphisms and its association with feed efficiency traits in Nellore cattle. **Meta Gene**, v. 2, n. 1, p. 206–217, 2014.

ALEXANDRE, P. A.; KOGELMAN, L. J. A.; SANTANA, M. H. A.; PASSARELLI, D.; PULZ, L. H.; FANTINATO-NETO, P.; SILVA, S. L.; LEME, P. R.; STREFEZZI, R. F.; COUTINHO, L. L.; FERRAZ, J. B. S.; ELER, J. P.; KADARMIDEEN, H. N.; FUKUMASU, H. Liver transcriptomic networks reveal main biological processes associated with feed efficiency in beef cattle. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, p. 1–13, 2015.

ALMEIDA, A. M.; BASSOLS, A.; BENDIXEN, E.; BHIDE, M.; CECILIANI, F.; CRISTOBAL, S.; ECKERSALL, P. D.; HOLLUNG, K.; LISACEK, F.; MAZZUCCHELLI, G.; MCLAUGHLIN, M.; MILLER, I.; NALLY, J. E.; PLOWMAN, J.; RENAUT, J.; RODRIGUES, P.; RONCADA, P.; STARIC, J.; TURK, R. Animal board invited review: Advances in proteomics for animal and food sciences. **Animal**, v. 9, n. 1, p. 1–17, 2015.

AMUNUGAMA, R.; JONES, R.; FORD, M.; ALLEN, D. Bottom-up mass spectrometry–based proteomics as an investigative analytical tool for discovery and quantification of proteins in biological samples. **Advances in Wound Care**, v. 2, n. 9, p. 549–557, 2013.

ANDERSON, R. V.; RASBY, R. J.; KLOPFENSTEIN, T. J.; CLARK, R. T. An evaluation of production and economic efficiency of two beef systems from calving to slaughter. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 694–704, 2005.

ANNAERT, W. G.; BECKER, B.; KISTNER, U.; RETH, M.; JAHN, R. Export of cellubrevin from the endoplasmic reticulum is controlled by BAP31. **Journal of Cell Biology,** v. 139, n. 6, p. 1397–1410, 1997.

ARCHER, J. A.; RICHARDSON, E. C.; HERD, R. M.; ARTHUR, P. F. Potential for selection to improve efficiency of feed use in beef cattle: a review. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 50, n. 2, p. 147, 1999.

ARTEGOITIA, V. M.; FOOTE, A. P.; LEWIS, R. M.; FREETLY, H. C. Rumen fluid metabolomics analysis associated with feed efficiency on crossbred steers. **Scientific Reports**, v. 7, n. 2864, p. 14 p., 2017.

ARTHUR, J. P. F.; HERD, R. M. Residual feed intake in beef cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. spe, p. 269–279, 2008.

ARTHUR, P. F.; ARCHER, J. A.; JOHNSTON, D. J.; HERD, R. M.; RICHARDSON, E. C.; PARNELL, P. F. Genetic and phenotypic variance and covariance components for feed intake, feed efficiency, and other postweaning traits in Angus cattle. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 11, p. 2805–2811, 2001.

ARTHUR, P. F.; RENAND, G.; KRAUSS, D. Genetic and phenotypic relationships among different measures of growth and feed efficiency in young Charolais bulls. **Livestock Production Science**, v. 68, n. 2–3, p. 131–139, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. **Perfil da pecuária no Brasil** - Relatório anual. 2018. Disponível em: <http://abiec.siteoficial.ws/images/upload/sumario-pt-010217.pdf>. Acesso em: 24 set. 2018.

BALBINO, L. C.; CORDEIRO, L. A. M.; OLIVEIRA, P.; KLUTHCOUSKI, J.; GALERANI, P. R.; VILELA, L. Agricultura sustentável por meio da integração lavoura-pecuária-floresta (Ilpf). **Informações Agronômicas**, v. 138, p. 1–18, 2012.

BARUA, A. B.; SIDELL, N. Retinoyl beta-glucuronide: a biologically active interesting retinoid. **The Journal of nutrition**, v. 134, n. 1, p. 286S–289S, 2004.

BASARAB, J. A.; PRICE, M. A.; AALHUS, J. L.; OKINE, E. K.; SNELLING, W. M.; LYLE, K. L. Residual feed intake and body composition in young growing cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 83, n. 2, p. 189–204, 2003.

BENDIXEN, E. The use of proteomics in meat science. **Meat science**, v. 71, n. 1, p. 138–49, 2005.

BENDIXEN, E.; DANIELSEN, M.; HOLLUNG, K.; GIANAZZA, E.; MILLER, I. Farm animal proteomics--a review. **Journal of Proteomics**, v. 74, n. 3, p. 282–93, 2011.

BENDIXEN, E.; DANIELSEN, M.; LARSEN, K.; BENDIXEN, C. Advances in porcine genomics and proteomicsc-a toolbox for developing the pig as a model organism for molecular biomedical research. **Briefings in Functional Genomics and Proteomics**, v. 9, n. 3, p. 208–219, 2010.

BENEDETI, P. D. B.; DETMANN, E.; MANTOVANI, H. C.; BONILHA, S. F. M.; SERÃO, N. V. L.; LOPES, D. R. G.; SILVA, W.; NEWBOLD, C. J.; DUARTE, M. S. Nellore bulls (Bos taurus indicus) with high residual feed intake have increased the expression of genes involved in oxidative phosphorylation in rumen epithelium. **Animal Feed Science and Technology**, v. 235, n. 6, p. 77–86, 2018.

BERGMAN, N.; BERGQUIST, J. Recent developments in proteomic methods and disease biomarkers. **Analyst**, v. 139, n. 16, p. 3836–3851, 2014.

BERRY, D. P.; CROWLEY, J. J. Residual intake and body weight gain: A new measure of efficiency in growing cattle. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 1, p. 109–115, 2012.

BERRY, D. P.; CROWLEY, J. J. Cell biology symposium: Genetics of feed efficiency in dairy and beef cattle 1. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 1594–1613, 2013.

BERRY, D. P.; MEADE, K. G.; MULLEN, M. P.; BUTLER, S.; DISKIN, M. G.; MORRIS, D.; CREEVEY, C. J. The integration of omic disciplines and systems biology in cattle breeding. **Animal**, v. 5, n. 4, p. 493–505, 2011.

BHATT, M. R.; KHATRI, Y.; RODGERS, R. J.; MARTIN, L. L. Role of cytochrome b5 in the modulation of the enzymatic activities of cytochrome P450 17αhydroxylase/17,20-lyase (P450 17A1). **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 170, p. 2–18, 2017.

BHOJ, V. G.; CHEN, Z. J. Ubiquitylation in innate and adaptive immunity. **Nature**, v. 458, n. 7237, p. 430–437, 2009.

BILIC, P.; KULES, J.; GALAN, A.; PONTES, L. G. de; GUILLEMIN, N.; HORVATIC, A.; SABES, A. F.; MRLJAK, V.; ECKERSALL, P. D. Proteomics in veterinary medicine and animal science: neglected scientific opportunities with immediate impact. **Proteomics**, v. 1800047, p. 1–7, 2018.

BOTTJE, W. G.; CARSTENS, G. E. Association of mitochondrial function and feed efficiency in poultry and livestock species. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 14 Suppl, p. 48–63, 2009.

BOTTJE, W. G.; LASSITER, K.; DRIDI, S.; HUDSON, N.; KONG, B. W. Enhanced expression of proteins involved in energy production and transfer in breast muscle of pedigree male broilers exhibiting high feed efficiency. **Poultry Science**, v. 96, n. 7, p. 2454–2458, 2017a.

BOTTJE, W.; KONG, B. W.; REVERTER, A.; WAARDENBERG, A. J.; LASSITER, K.; HUDSON, N. J. Progesterone signaling in broiler skeletal muscle is associated with divergent feed efficiency. **BMC Systems Biology**, v. 11, n. 1, 2017b.

BRETSCHER, A.; CHAMBERS, D.; NGUYEN, R.; RECZEK, D. Erm-merlin and ebp50 protein families in plasma membrane organization and function. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 16, p. 113–143, 2000.

BUNNIK, E. M.; LE ROCH, K. G. An introduction to functional genomics and systems biology. **Advances in Wound Care**, v. 2, n. 9, p. 490–498, 2013.

CACCIAGLI, P.; SUTERA-SARDO, J.; BORGES-CORREIA, A.; ROUX, J. C.; DORBOZ, I.; DESVIGNES, J. P.; BADENS, C.; DELEPINE, M.; LATHROP, M.; CAU, P.; LÉVY, N.; GIRARD, N.; SARDA, P.; BOESPFLUG-TANGUY, O.; VILLARD, L. Mutations in BCAP31 cause a severe X-Linked phenotype with deafness, dystonia, and central hypomyelination and disorganize the Golgi apparatus. **American Journal of Human Genetics**, v. 93, n. 3, p. 579–586, 2013.

CANTALUPO, G.; ALIFANO, P.; ROBERTI, V.; BRUNI, C. B.; BUCCI, C. Rabinteracting lysosomal protein (RILP): The Rab7 effector required for transport to lysosomes. **EMBO Journal**, v. 20, n. 4, p. 683–693, 2001.

CAPPER, J. L. The environmental impact of beef production in the United States: 1977 compared with 2007. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 12, p. 4249–4261, 2011.

CARRER, C. C.; CADOSO, J. L.; AFERRI, G.; RIBEIRO, M. M. de L. O.; OLIVEIRA, N. J. D. De. Alguns aspectos da política creditícia e o desenvolvimento da pecuária de corte no Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 5, p. 1455–1461, 2007.

CASTAÑÓN, M. J.; WALKO, G.; WINTER, L.; WICHE, G. Plectin-intermediate filament partnership in skin, skeletal muscle, and peripheral nerve. **Histochemistry** and Cell Biology, v. 140, n. 1, p. 33–53, 2013.

CATHERMAN, A. D.; SKINNER, O. S.; KELLEHER, N. L. Top Down proteomics: Facts and perspectives. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 445, n. 4, p. 683–693, 2014.

CEACERO, T. M.; MERCADANTE, M. E. Z.; CYRILLO, J. N. D. S. G.; CANESIN, R. C.; BONILHA, S. F. M.; DE ALBUQUERQUE, L. G. Phenotypic and genetic correlations of feed efficiency traits with growth and carcass traits in nellore cattle selected for postweaning weight. **Plos One**, v. 11, n. 8, 2016.

CHAUDHARY, P.; SHARMA, R.; SHARMA, A.; VATSYAYAN, R.; YADAV, S.; SINGHAL, S. S.; RAUNIYAR, N.; PROKAI, L.; AWASTHI, S.; AWASTHI, Y. C. Mechanisms of 4-hydroxy-2-nonenal induced pro- and anti-apoptotic signaling. **Biochemistry**, v. 49, n. 29, p. 6263–6275, 2010.

CHEARSKUL, S.; DELBRIDGE, E.; SHULKES, A.; PROIETTO, J.; KRIKETOS, A. Effect of weight loss and ketosis on postprandial cholecystokinin and free fatty acid concentrations. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, n. 5, p. 1238–1246, 2008.

CHEN, Y.; GONDRO, C.; QUINN, K.; HERD, R. M.; PARNELL, P. F.; VANSELOW, B. Global gene expression profiling reveals genes expressed differentially in cattle

with high and low residual feed intake. **Animal Genetics**, v. 42, n. 5, p. 475–490, 2011.

CHENG, C. Y.; SHIH, W. L.; HUANG, W. R.; CHI, P. I.; WU, M. H.; LIU, H. J. Bovine Ephemeral Fever Virus Uses a Clathrin-Mediated and Dynamin 2-Dependent Endocytosis Pathway That Requires Rab5 and Rab7 as Well as Microtubules. **Journal of Virology**, v. 86, n. 24, p. 13653–13661, 2012.

CHENG, Z.; TEO, G.; KRUEGER, S.; ROCK, T. M.; KOH, H. W.; CHOI, H.; VOGEL, C. Differential dynamics of the mammalian mRNA and protein expression response to misfolding stress. **Molecular Systems Biology**, v. 12, n. 1, p. 855–855, 2016.

CHEON, Y.; NARA, T. Y.; BAND, M. R.; BEEVER, J. E.; WALLIG, M. A.; NAKAMURA, M. T. Induction of overlapping genes by fasting and a peroxisome proliferator in pigs: evidence of functional PPARα in nonproliferating species. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 288, p. 1525–1535, 2005.

CHIVA, C.; ORTEGA, M.; SABIDÓ, E. Influence of the digestion technique, protease, and missed cleavage peptides in protein quantitation. **Journal of Proteome Research**, v. 13, n. 9, p. 3979–3986, 2014.

CHO, N. E.; BANG, B.; GURUNG, P.; LI, M.; CLEMENS, D. L.; MICHAEL, T.; JAMES, L. P.; CHASE, J. R.; SAITO, T. Retinoid regulation of antiviral innate immunity in hepatocytes. **Hepatology**, v. 63, n. 6, p. 1783–1795, 2016.

CLEMMONS, B. A.; MIHELIC, R. I.; BECKFORD, R. C.; POWERS, J. B.; MELCHIOR, E. A.; MCFARLANE, Z. D.; COPE, E. R.; EMBREE, M. M.; MULLINIKS, J. T.; CAMPAGNA, S. R.; VOY, B. H.; MYER, P. R. Serum metabolites associated with feed efficiency in black angus steers. **Metabolomics**, v. 13, n. 12, p. 1–8, 2017.

CONNOR, E. E.; KAHL, S.; ELSASSER, T. H.; PARKER, J. S.; LI, R. W.; VAN TASSELL, C. P.; BALDWIN VI, R. L.; BARAO, S. M. Enhanced mitochondrial complex gene function and reduced liver size may mediate improved feed efficiency of beef cattle during compensatory growth. **Functional and Integrative Genomics**, v. 10, p. 39–51, 2010.

COX, J.; HEIN, M. Y.; LUBER, C. A.; PARON, I.; NAGARAJ, N.; MANN, M. Accurate proteome-wide label-free quantification by delayed normalization and maximal peptide ratio extraction, termed MaxLFQ. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 13, n. 9, p. 2513–2526, 2014.

COX, J.; MANN, M. MaxQuant enables high peptide identification rates, individualized p.p.b.-range mass accuracies and proteome-wide protein quantification. **Nature Biotechnology**, v. 26, n. 12, p. 1367–1372, 2008.

CROWLEY, J. J.; EVANS, R. D.; MCHUGH, N.; KENNY, D. A.; MCGEE, M.; CREWS, D. H.; BERRY, D. P. Genetic relationships between feed efficiency in growing males and beef cow performance. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 11, p. 3372–3381, 2011. CROWLEY, J. J.; MCGEE, M.; KENNY, D. A.; CREWS, D. H.; EVANS, R. D.; BERRY, D. P. Phenotypic and genetic parameters for different measures of feed efficiency in different breeds of Irish performance-tested beef bulls. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 3, p. 885–894, 2010.

D'AMBROSIO, C.; ARENA, S.; TALAMO, F.; LEDDA, L.; RENZONE, G.; FERRARA, L.; SCALONI, A. Comparative proteomic analysis of mammalian animal tissues and body fluids: Bovine proteome database. Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, v. 815, n. 1–2, p. 157–168, 2005.

DANIELSEN, M.; CODREA, M. C.; INGVARTSEN, K. L.; FRIGGENS, N. C.; BENDIXEN, E.; RØNTVED, C. M. Quantitative milk proteomics - Host responses to lipopolysaccharide- mediated inflammation of bovine mammary gland. **Proteomics**, v. 10, n. 12, p. 2240–2249, 2010.

DEIST, M. S.; GALLARDO, R. A.; BUNN, D. A.; DEKKERS, J. C. M.; ZHOU, H.; LAMONT, S. J. Resistant and susceptible chicken lines show distinctive responses to Newcastle disease virus infection in the lung transcriptome. **BMC Genomics**, v. 18, n. 989, p. 15 p., 2017.

DICK, R. A.; KWAK, M. K.; SUTTER, T. R.; KENSLER, T. W. Antioxidative function and substrate specificity of NAD(P)H-dependent alkenal/one oxidoreductase. A new role for leukotriene B4 12-hydroxydehydrogenase/15-oxoprostaglandin 13-reductase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 44, p. 40803–40810, 2001.

DOELMAN, J.; CAO, H.; PURDIE, N. G.; KIM, J. J. M.; SWANSON, K. C.; OSBORNE, V. R.; TEY, J.; ALI, A.; FENG, Z.; KARROW, N. A.; CANT, J. P. Transcript profiling of the ruminant liver indicates a unique program of transcriptional regulation of ketogenic enzymes during food restriction. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part D: Genomics and Proteomics**, v. 7, n. 3, p. 303–310, 2012.

DOKLADNY, K.; LOBB, R.; WHARTON, W.; MA, T. Y.; MOSELEY, P. L. LPSinduced cytokine levels are repressed by elevated expression of HSP70 in rats: Possible role of NF-κB. **Cell Stress and Chaperones**, v. 15, n. 2, p. 153–163, 2010.

DU, Z.; ZHOU, X.; LING, Y.; ZHANG, Z.; SU, Z. agriGO: A GO analysis toolkit for the agricultural community. **Nucleic Acids Research**, v. 38, n. suppl. 2, p. 64–70, 2010.

DUNN, H. A.; FERGUSON, S. S. G. PDZ protein regulation of GPCR trafficking and signaling pathways. **Molecular Pharmacology**, v. 88, n. October, p. 624–639, 2015.

DURACKOVÁ, Z. Some current insights into oxidative stress. **Physiological Research**, v. 59, n. (4), p. 459–69, 2010.

FEIGE, M. J.; GROSCURTH, S.; MARCINOWSKI, M.; SHIMIZU, Y.; KESSLER, H.; HENDERSHOT, L. M.; BUCHNER, J. An Unfolded CH1 domain controls the assembly and secretion of IgG antibodies. **Molecular Cell**, v. 34, n. 5, p. 569–579, 2009.

FOOTE, A. P.; KEEL, B. N.; ZAREK, C. M.; LINDHOLM-PERRY, A. K. Beef steers with average dry matter intake and divergent average daily gain have altered gene expression in the jejunum. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 10, p. 4430–4439, 2017.

FORMAN, H. J.; FUKUTO, J. M.; MILLER, T.; ZHANG, H.; RINNA, A.; LEVY, S. Archives of Biochemistry and Biophysics. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 477, p. 183–195, 2008.

FU, L.; XU, Y.; HOU, Y.; QI, X.; ZHOU, L.; LIU, H.; LUAN, Y.; JING, L.; MIAO, Y.; ZHAO, S.; LIU, H.; LI, X. Proteomic analysis indicates that mitochondrial energy metabolism in skeletal muscle tissue is negatively correlated with feed efficiency in pigs. **Scientific Reports**, v. 7, n. February, p. 1–8, 2017.

GEYER, P. E.; WEWER ALBRECHTSEN, N. J.; TYANOVA, S.; GRASSL, N.; IEPSEN, E. W.; LUNDGREN, J.; MADSBAD, S.; HOLST, J. J.; TOREKOV, S. S.; MANN, M. Proteomics reveals the effects of sustained weight loss on the human plasma proteome. **Molecular Systems Biology**, v. 12, n. 12, 12p., 2016.

GHODASARA, P.; SADOWSKI, P.; SATAKE, N.; KOPP, S.; MILLS, P. C. Clinical veterinary proteomics: Techniques and approaches to decipher the animal plasma proteome. **Veterinary Journal**, v. 230. n. 1, p. 6-12, 2017.

GHOSH, S.; KRUGER, C.; WICKS, S.; SIMON, J.; KUMAR, K. G.; JOHNSON, W. D.; MYNATT, R. L.; NOLAND, R. C.; RICHARDS, B. K. Short chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency and short-term high-fat diet perturb mitochondrial energy metabolism and transcriptional control of lipid-handling in liver. **Nutrition and Metabolism**, v. 13, n. 1, p. 1–17, 2016.

GIAMPIETRI, C.; PETRUNGARO, S.; CONTI, S.; FACCHIANO, A.; FILIPPINI, A.; ZIPARO, E. Cancer microenvironment and endoplasmic reticulum stress response. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, 11p., 2015.

GOLOVAN, S. P.; HAKIMOV, H. A.; VERSCHOOR, C. P.; WALTERS, S.; GADISH, M.; ELSIK, C.; SCHENKEL, F.; CHIU, D. K. Y.; FORSBERG, C. W. Analysis of Sus scrofa liver proteome and identification of proteins differentially expressed between genders, and conventional and genetically enhanced lines. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part D: Genomics and Proteomics**, v. 3, n. 3, p. 234–242, 2008.

GONDRET, F.; VINCENT, A.; HOUÉE-BIGOT, M.; SIEGEL, A.; LAGARRIGUE, S.; CAUSEUR, D.; GILBERT, H.; LOUVEAU, I. A transcriptome multi-tissue analysis identifies biological pathways and genes associated with variations in feed efficiency of growing pigs. **BMC Genomics**, v. 18, n. 1, 2017.

GRION, A. L.; MERCADANTE, M. E. Z.; CYRILLO, J. N. S. G.; BONILHA, S. F. M.; MAGNANI, E.; BRANCO, R. H. Selection for feed efficiency traits and correlated genetic responses in feed intake and weight gain of Nellore cattle. **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 3, p. 955–965, 2014. GRUBBS, J. K.; FRITCHEN, A. N.; HUFF-LONERGAN, E.; DEKKERS, J. C. M.; GABLER, N. K.; LONERGAN, S. M. Divergent genetic selection for residual feed intake impacts mitochondria reactive oxygen species production in pigs. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 5, p. 2133–2140, 2013.

GRUBBS, J. K.; HUFF-LONERGAN, E.; GABLER, N. K.; DEKKERS, J. C. M.; LONERGAN, S. M. Liver and skeletal muscle mitochondria proteomes are altered in pigs divergently selected for residual feed intake. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 1995–2007, 2014.

HAEGGSTRÖM, J. Z.; FUNK, C. D. Lipoxygenase and leukotriene pathways: Biochemistry, biology, and roles in disease. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 10, p. 5866–5896, 2011.

HAN, J.; WANG, Y. Proteomics: present and future in food science and technology. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, n. 1, p. 26–30, 2008.

HAN, S. P.; TANG, Y. H.; SMITH, R. Functional diversity of the hnRNPs: past, present and perspectives. **Biochemical Journal**, v. 430, n. 3, p. 379–392, 2010.

HARDIE, L. C.; VANDEHAAR, M. J.; TEMPELMAN, R. J.; WEIGEL, K. A.; ARMENTANO, L. E.; WIGGANS, G. R.; VEERKAMP, R. F.; DE HAAS, Y.; COFFEY, M. P.; CONNOR, E. E.; HANIGAN, M. D.; STAPLES, C.; WANG, Z.; DEKKERS, J. C. M.; SPURLOCK, D. M. The genetic and biological basis of feed efficiency in midlactation Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 11, p. 9061– 9075, 2017.

HAYS, T.; AGATI, V. D. D.; GARELLEK, J. A.; WARREN, T.; TRUBIN, M. E.; HYINK, D. P.; HE, J. C.; KLOTMAN, P. E. Glomerular MYH9 expression is reduced by HIV-1. **AIDS**, v. 26, n. 7, p. 797–803, 2014.

HERD, R. M.; ARTHUR, P. F.; BOTTEMA, C. D. K.; EGARR, A. R.; GEESINK, G. H.; LINES, D. S.; PIPER, S.; SIDDELL, J. P.; THOMPSON, J. M.; PITCHFORD, W. S. Genetic divergence in residual feed intake affects growth, feed efficiency, carcass and meat quality characteristics of Angus steers in a large commercial feedlot. **Animal Production Science**, p. 1–12, 2014.

HERD, R. M.; BISHOP, S. C. Genetic variation in residual feed intake and its association with other production traits in British Hereford cattle. **Livestock Production Science**, v. 63, n. 2, p. 111–119, 2000.

HERD, R. M.; ODDY, V. H.; RICHARDSON, E. C. Biological basis for variation in residual feed intake in beef cattle. 1. Review of potential mechanisms. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 44, n. 4–5, p. 423–430, 2004.

HIRSCH, I.; WEIWAD, M.; PRELL, E.; FERRARI, D. M. ERp29 deficiency affects sensitivity to apoptosis via impairment of the ATF6-CHOP pathway of stress response. **Apoptosis**, v. 19, n. 5, p. 801–815, 2014.

HUANG, X.; ZHOU, W.; ZHANG, Y.; LIU, Y. High expression of PTGR1 promotes NSCLC cell growth via positive regulation of cyclin-dependent protein kinase complex. **BioMed Research International**, v. 2016, 2016.

HUSSAIN, T.; TAN, B.; YIN, Y.; BLACHIER, F.; TOSSOU, M. C. B.; RAHU, N. Oxidative stress and inflammation: What polyphenols can do for us? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1–9, 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção Pecuária -Pesquisa trimestral do abate de animais. 2018. Disponível em: <https://downloads.ibge.gov.br/downloads_estatisticas.htm>. Acesso em: 10 jul. 2018.

IQBAL, M.; PUMFORD, N. R.; TANG, Z. X.; LASSITER, K.; OJANO-DIRAIN, C.; WING, T.; COOPER, M.; BOTTJE, W. Compromised liver mitochondrial function and complex activity in low feed efficient broilers are associated with higher oxidative stress and differential protein expression. **Poultry science**, v. 84, n. 6, p. 933–941, 2005.

JACOBELLI, J.; CHMURA, S. A.; BUXTON, D. B.; DAVIS, M. M.; KRUMMEL, M. F. A single class II myosin modulates T cell motility and stopping, but not synapse formation. **Nature Immunology**, v. 5, n. 5, p. 531–538, 2004.

JANS, J.; GROOT, R. De; JONGE, M. I. De; FERWERDA, G. Actin- and clathrindependent mechanisms regulate interferon gamma release after stimulation of human immune cells with respiratory syncytial virus. **Virology Journal**, v. 13, n. 52, p. 1–8, 2016.

JIANG, X.; ZENG, T.; ZHANG, S.; ZHANG, Y. Comparative proteomic and bioinformatic analysis of the effects of a high-grain diet on the hepatic metabolism in lactating dairy goats. **Plos One**, v. 8, n. 11, 2013.

JIROUSKOVA, M.; NEPOMUCKA, K.; OYMAN-EYRILMEZ, G.; KALENDOVA, A.; HAVELKOVA, H.; SARNOVA, L.; CHALUPSKY, K.; SCHUSTER, B.; BENADA, O.; MIKSATKOVA, P.; KUCHAR, M.; FABIAN, O.; SEDLACEK, R.; WICHE, G.; GREGOR, M. Plectin controls biliary tree architecture and stability in cholestasis. Journal of Hepatology, v. 68, n. 5, p. 1006–1017, 2018.

JUNG, U. S.; KIM, M. J.; WANG, T.; LEE, J. S.; JEON, S. W.; JO, N. C.; KIM, W. S.; BAIK, M.; LEE, H. G. Upregulated heat shock protein beta-1 associated with caloric restriction and high feed efficiency in longissimus dorsi muscle of steer. **Livestock Science**, v. 202, p. 109–114, 2017.

KARISA, B.; MOORE, S.; PLASTOW, G. Analysis of biological networks and biological pathways associated with residual feed intake in beef cattle. **Animal Science Journal**, v. 85, p. 374–387, 2014.

KARISA, B.; THOMSON, J.; WANG, Z.; STOTHARD, P.; MOORE, S. S.; S, P. G. Candidate genes and single nucleotide polymorphisms associated with variation in residual feed intake in beef cattle. **Journal of Animal Science**, p. 3502–3513, 2013.

KHANSEFID, M.; MILLEN, C. A.; CHEN, Y.; PRYCE, J. E.; CHAMBERLAIN, A. J.; VANDER JAGT, C. J.; GONDRO, C.; GODDARD, M. E. Gene expression analysis of blood, liver, and muscle in cattle divergently selected for high and low residual feed intake1. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 11, p. 4764–4775, 2017.

KIEFER, F. W.; ORASANU, G.; NALLAMSHETTY, S.; BROWN, J. D.; WANG, H.; LUGER, P.; QI, N. R.; BURANT, C. F.; DUESTER, G.; PLUTZKY, J. Retinaldehyde dehydrogenase 1 coordinates hepatic gluconeogenesis and lipid metabolism. **Endocrinology**, v. 153, n. 7, p. 3089–3099, 2012.

KOCH, R. M.; SWIGER, L. A.; CHAMBERS, D.; GREGORY, K. E. Efficiency of Feed Use in Beef Cattle. Journal of Animal Science, v. 22, p. 486–494, 1963.

KONG, B.-W.; SONG, J. J.; LEE, J. Y.; HARGIS, B. M.; WING, T.; LASSITER, K.; BOTTJE, W. Gene expression in breast muscle associated with feed efficiency in a single male broiler line using a chicken 44K oligo microarray. I. Top differentially expressed genes. **Poultry Science**, v. 90, n. 11, p. 2535–2547, 2011.

KONG, B. W.; LASSITER, K.; PIEKARSKI-WELSHER, A.; DRIDI, S.; REVERTER, A.; HUDSON, N. J.; BOTTJE, W. G. Proteomics of breast muscle tissue associated with the phenotypic expression of feed efficiency within a pedigree male broiler line: I. Highlight on mitochondria. **Plos One**, v. 11, n. 5, 29p., 2016.

LANGFELDER, P.; HORVATH, S. Eigengene networks for studying the relationships between co-expression modules. **BMC Systems Biology**, v. 1, 2007.

LANGFELDER, P.; HORVATH, S. WGCNA: An R package for weighted correlation network analysis. **BMC Bioinformatics**, v. 9, 2008.

LENTUCCI, C.; BELKINA, A. C.; CEDERQUIST, C. T.; CHAN, M.; JOHNSON, H. E.; PRASAD, S.; LOPACINSKI, A.; NIKOLAJCZYK, B. S.; MONTI, S.; SNYDER-CAPPIONE, J.; TANASA, B.; CARDAMONE, M. D.; PERISSI, V. Inhibition of Ubc13mediated ubiquitination by GPS2 regulates multiple stages of B cell development. **Journal of Biological Chemistry**, v. 292, n. 7, p. 2754–2772, 2017.

LINES, D. S.; PITCHFORD, W. S.; BOTTEMA, C. D. K.; HERD, R. M.; ODDY, V. H. Selection for residual feed intake affects appetite and body composition rather than energetic efficiency. **Animal Production Science**, v. 58, n. 1, p. 175–184, 2014.

LIZASO, A.; TAN, K. T.; LEE, Y. H. β-adrenergic receptor-stimulated lipolysis requires the RAB7-mediated autolysosomal lipid degradation. **Autophagy**, v. 9, n. 8, p. 1228–1243, 2013.

LOGUERCIO, C.; FEDERICO, A. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 34, n. 1, 10p., 2003.

LU, D.; SARGOLZAEI, M.; KELLY, M.; VANDER VOORT, G.; WANG, Z.; MANDELL, I.; MOORE, S.; PLASTOW, G.; MILLER, S. P. Genome-wide association analyses for carcass quality in crossbred beef cattle. **BMC Genetics**, v. 14, n. 80, 2013.

MAIER, T.; GÜELL, M.; SERRANO, L. Correlation of mRNA and protein in complex biological samples. **FEBS Letters**, v. 583, p. 3966-3973, 2009.

MAK, C. M.; LAM, C.-W.; CHIM, S.; SIU, T.-S.; NG, K.-F.; TAM, S. Biochemical and molecular diagnosis of tyrosinemia type I with two novel FAH mutations in a Hong Kong chinese patient: Recommendation for expanded newborn screening in Hong Kong. **Clinical Biochemistry**, v. 46, p. 155–159, 2013.

MCALLISTER, T. a.; CHENG, K.-J.; OKINE, E. K.; MATHISON, G. W. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 76, n. 2, p. 231–243, 1996.

MEALE, S. J.; MORGAVI, D. P.; CASSAR-MALEK, I.; ANDUEZA, D.; ORTIGUES-MARTY, I.; ROBINS, R. J.; SCHIPHORST, A. M.; LAVERROUX, S.; GRAULET, B.; BOUDRA, H.; CANTALAPIEDRA-HIJAR, G. Exploration of biological markers of feed efficiency in young bulls. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 45, p. 9817–9827, 2017.

MOLETTE, C.; THÉRON, L.; MARTY-GASSET, N.; FERNANDEZ, X.; RÉMIGNON, H. Current advances in proteomic analysis of (fatty) liver. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 14, p. 4290–4295, 2012.

MONTANHOLI, Y. R.; FONTOURA, A. B. P.; DIEL DE AMORIM, M.; FOSTER, R. A.; CHENIER, T.; MILLER, S. P. Seminal plasma protein concentrations vary with feed efficiency and fertility-related measures in young beef bulls. **Reproductive Biology**, v. 16, n. 2, p. 147–156, 2016.

NAKAMURA, M. T.; YUDELL, B. E.; LOOR, J. J. Regulation of energy metabolism by long-chain fatty acids. **Progress in Lipid Research**, v. 53, p. 124–144, 2014.

NELISSEN, H.; EECKHOUT, D.; DEMUYNCK, K.; PERSIAU, G.; WALTON, A.; VAN BEL, M.; VERVOORT, M.; CANDAELE, J.; DE BLOCK, J.; AESAERT, S.; VAN LIJSEBETTENS, M.; GOORMACHTIG, S.; VANDEPOELE, K.; VAN LEENE, J.; MUSZYNSKI, M.; GEVAERT, K.; INZÉ, D.; DE JAEGER, G. Dynamic Changes in ANGUSTIFOLIA3 Complex Composition Reveal a Growth Regulatory Mechanism in the Maize Leaf. **The Plant Cell**, v. 27, n. 6, p. 1605–1619, 2015.

NOVAIS, F. J. **Caracterização do metaboloma sérico de bovinos Nelore e sua potencial associação à eficiência alimentar**. 2017. 92 f. Dissertação (Mestrado) -Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017.

O'CONNOR, S. F.; TATUM, J. D.; WULF, D. M.; GREEN, R. D.; SMITH, G. C. Genetic effects on beef tenderness in *Bos indicus* composite and *Bos taurus* cattle. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 7, p. 1822–1830, 1997.

OH, Y.; JO, N. W.; CHOI, J. W.; SOO, H.; SEO, S.; KANG, K.; HWANG, J.; KIM, S.; KIM, Y.; KIM, I.; KIM, J. H.; BANNO, Y.; RYU, S. H.; SUH, P.; KIM, H. S.; HEO, K. NHERF2 specifically interacts with LPA 2 receptor and defines the specificity and efficiency of receptor-mediated phospholipase C- β 3 activation. **Molecular and Cellular Biology**, v. 24, n. 11, p. 5069–5079, 2004.

OLIVEIRA, P. S. N.; CESAR, A. S. M.; NASCIMENTO, M. L.; CHAVES, A. S.; TIZIOTO, P. C.; TULLIO, R. R.; LANNA, D. P. D.; ROSA, A. N.; SONSTEGARD, T. S.; MOURAO, G. B.; REECY, J. M.; GARRICK, D. J.; MUDADU, M. A.; COUTINHO, L. L.; REGITANO, L. C. A. Identification of genomic regions associated with feed efficiency in Nelore cattle. **BMC Genetics**, v. 15, p. 100, 2014.

OLIVIERI, B. F.; MERCADANTE, M. E. Z.; CYRILLO, J. N. D. S. G.; BRANCO, R. H.; BONILHA, S. F. M.; DE ALBUQUERQUE, L. G.; DE OLIVEIRA SILVA, R. M.; BALDI, F. Genomic regions associated with feed efficiency indicator traits in an experimental nellore cattle population. **Plos One**, v. 11, n. 10, 2016.

PAPADOPOULOU, C.; BOUKAKIS, G.; GANOU, V.; PATRINOU-GEORGOULA, M.; GUIALIS, A. Expression profile and interactions of hnRNP A3 within hnRNP/mRNP complexes in mammals. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 523, n. 2, p. 151–160, 2012.

PARADIS, F.; YUE, S.; GRANT, J. R.; STOTHARD, P.; BASARAB, J. A.; FITZSIMMONS, C. Transcriptomic analysis by RNA sequencing reveals that hepatic interferon-in- duced genes may be associated with feed efficiency in beef heifers 1. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. March, p. 3331–3341, 2015.

PARK, M. H.; JO, M.; YU, R. K.; LEE, C.; HONG, J. T. Pharmacology & Therapeutics Roles of peroxiredoxins in cancer, neurodegenerative diseases and in fl ammatory diseases. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 163, p. 1–23, 2016.

PARRAY, H. A.; YUN, J. W. Proteomic identification of target proteins of thiodigalactoside in white adipose tissue from diet-induced obese rats. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 7, p. 14441–14463, 2015.

PEREIRA, V. V.; MANGUALDE, R. M.; SBRISSIA, G. F. Práticas Sustentáveis na Bovinocultura de Corte Brasileira. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 1, n. 2, p. 26–34, 2011.

PIEL, R. B.; SHIFERAW, M. T.; VASHISHT, A. A.; MARCERO, J. R.; PRAISSMAN, J. L.; PHILLIPS, J. D.; WOHLSCHLEGEL, J. A.; MEDLOCK, A. E. A Novel Role for Progesterone Receptor Membrane Component 1 (PGRMC1): A Partner and Regulator of Ferrochelatase. **Biochemistry**, v. 55, n. 37, p. 5204–5217, 2016.

POPOVIC, D.; VUCIC, D.; DIKIC, I. Ubiquitination in disease pathogenesis and treatment. **Nature Medicine**, v. 20, n. 11, p. 1242–1253, 2014.

POULOS, S. P.; DODSON, M. V; CULVER, M. F.; HAUSMAN, G. J. The increasingly complex regulation of adipocyte differentiation. **Experimental Biology and Medicine**, v. 241, n. 5, p. 449–456, 2016.

POWELL, W. S.; ROKACH, J. Biosynthesis, biological effects, and receptors of hydroxyeicosatetraenoic acids (HETEs) and oxoeicosatetraenoic acids (oxo-ETEs) derived from arachidonic acid. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1851, n. 4, p. 340–355, 2015.

RAGHAVAN, M.; WIJEYESAKERE, S. J.; PETERS, L. R.; CID, N. Del. Calreticulin in the immune system: ins and outs. **Trends in Immunology**, v. 34, n. 1, p. 13–21, 2013.

RICHARDSON, E. C. A.; HERD, R. M. B. Biological basis for variation in residual feed intake in beef cattle. 2. Synthesis of results following divergent selection Cooperative Research Centre for Cattle and Beef Quality. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 44, p. 431–440, 2004.

ROCHA, T. L.; COSTA, P. H. A.; MAGALHÃES, J. C. C.; EVARISTO, R. G. S.; VASCONCELOS, E. A. R.; COUTINHO, M. V.; PAES, N. S.; SILVA, M. C. M.; GROSSI-DE-SÁ, M. F. **Eletroforese bidimensional e análise de proteomas**. Brasília: EMBRAPA, 2005. Comunicado Técnico, 136. 112 p.

ROHE, H. J.; AHMED, I. S.; TWIST, K. E.; CRAVEN, R. J. NIH Public Access. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 121, n. 1, p. 14–19, 2010.

ROSSIGNOL, M.; PELTIER, J. B.; MOCK, H. P.; MATROS, A.; MALDONADO, A. M.; JORRÍN, J. V. Plant proteome analysis: A 2004-2006 update. **Proteomics**, v. 6, n. 20, p. 5529–5548, 2006.

SALLEH, M. S.; MAZZONI, G.; HÖGLUND, J. K.; OLIJHOEK, D. W.; LUND, P.; LØVENDAHL, P.; KADARMIDEEN, H. N. RNA-Seq transcriptomics and pathway analyses reveal potential regulatory genes and molecular mechanisms in high- and low-residual feed intake in Nordic dairy cattle. **BMC Genomics**, v. 18, n. 1, p. 1–17, 2017.

SALVATO, F.; CARVALHO, M. C. C. G. Métodos e estratégias em proteômica e suas aplicações na área vegetal. **Ciência Rural**, v. 40, n. 3, p. 727–734, 2010.

SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, R.; TORRES-MENA, J. E.; DE-LA-LUZ-CRUZ, M.; BERNAL-RAMOS, G. A.; VILLA-TREVIÑO, S.; CHAGOYA-HAZAS, V.; LANDERO-LÓPEZ, L.; GARCÍA-ROMÁN, R.; ROUIMI, P.; DEL-POZO-YAUNER, L.; MELÉNDEZ-ZAJGLA, J.; PÉREZ-CARREÓN, J. I. Increased expression of prostaglandin reductase 1 in hepatocellular carcinomas from clinical cases and experimental tumors in rats. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 53, p. 186–194, 2014.

SANTANA, M. H. A.; GOMES, R. C.; UTSUNOMIYA, Y. T.; NEVES, H. H. R.; NOVAIS, F. J.; BONIN, M. N.; FUKUMASU, H.; GARCIA, J. F.; ALEXANDRE, P. A.; OLIVEIRA, G. A.; COUTINHO, L. L.; FERRAZ, J. B. S. Genome-wide association with residual body weight gain in *Bos indicus* cattle. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 2, p. 5229–5233, 2015.

SANTANA, M. H. A.; UTSUNOMIYA, Y. T.; NEVES, H. H. R.; GOMES, R. C.; GARCIA, J. F.; FUKUMASU, H.; SILVA, S. L.; OLIVEIRA JUNIOR, G. A.; ALEXANDRE, P. A.; LEME, P. R.; BRASSALOTI, R. A.; COUTINHO, L. L.; LOPES, T. G.; MEIRELLES, F. V; ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. Genome-wide association analysis of feed intake and residual feed intake in Nellore cattle. **BMC Genetics**, v. 15, p. 1–8, 2014b. SANTANA, M. H. A; OLIVEIRA, G. A.; GOMES, R. C.; SILVA, S. L.; LEME, P. R.; STELLA, T. R.; MATTOS, E. C.; ROSSI, P.; BALDI, F. S.; ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S. Genetic parameter estimates for feed efficiency and dry matter intake and their association with growth and carcass traits in Nellore cattle. **Livestock Science**, v. 167, p. 80–85, 2014a.

SANTANA, M. H. A; ROSSI, P.; ALMEIDA, R.; CUCCO, D. C. Feed efficiency and its correlations with carcass traits measured by ultrasound in Nellore bulls. **Livestock Scien**ce, v. 145, n. 1–3, p. 252–257, 2012.

SANTANA, M. H. de A.; OLIVEIRA JUNIOR, G. A.; CESAR, A. S. M.; FREUA, M. C.; GOMES, R. C.; SILVA, S. L.; LEME, P. R.; FUKUMASU, H.; CARVALHO, M. E.; VENTURA, R. V.; COUTINHO, L. L.; KADARMIDEEN, H. N.; FERRAZ, J. B. S. Copy number variations and genome-wide associations reveal putative genes and metabolic pathways involved with the feed conversion ratio in beef cattle. **Journal of Applied Genetics**, v. 57, n. 4, p. 495–504, 2016.

SCHENKEL, F. S.; MILLER, S. P.; WILTON, J. W. Genetic parameters and breed differences for feed efficiency, growth, and body composition traits of young beef bulls. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 84, p. 177–185, 2004.

SEABURY, C. M.; OLDESCHULTE, D. L.; SAATCHI, M.; BEEVER, J. E.; DECKER, J. E.; HALLEY, Y. A.; BHATTARAI, E. K.; MOLAEI, M.; FREETLY, H. C.; HANSEN, S. L.; YAMPARA-IQUISE, H.; JOHNSON, K. A.; KERLEY, M. S.; KIM, J. W.; LOY, D. D.; MARQUES, E.; NEIBERGS, H. L.; SCHNABEL, R. D.; SHIKE, D. W.; SPANGLER, M. L.; WEABER, R. L.; GARRICK, D. J.; TAYLOR, J. F. Genome-wide association study for feed efficiency and growth traits in U.S. beef cattle. **BMC Genomics**, v. 18, n. 1, p. 1–25, 2017.

SECRETARIA DE COMÉRCIO EXTERIOR - MINISTÉRIO DA INDÚSTRIA, COMÉRCIO EXTERIOR E SERVIÇOS. **Balança commercial brasileira: acumulado do ano, janeiro-junho 2018.** Disponível em: <http://www.mdic.gov.br/comercio-exterior/estatisticas-de-comercio-exterior/balancacomercial-brasileira-acumulado-do-ano>. Acesso em: 18 jul. 2018.

SENHAJI, N.; ZAID, Y.; EL KHALFI, B.; FAHIMI, M.; MARTIN, J.; BADRE, W.; NADIFI, S.; SOUKRI, A. Peroxiredoxin-2 up-regulation in inflammatory bowel disease: Friend or foe? **Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)**, v. 32, n. 6, p. 1212–1220, 2017.

SERÃO, N. V.; GONZÁLEZ-PEÑA, D.; BEEVER, J. E.; FAULKNER, D. B.; SOUTHEY, B. R.; RODRIGUEZ-ZAS, S. L. Single nucleotide polymorphisms and haplotypes associated with feed efficiency in beef cattle. **BMC Genetics**, v. 14, p. 94, 2013.

SHANNON, P.; MARKIEL, A.; OZIER, O.; BALIGA, N. S.; WANG, J. T.; RAMAGE, D.; AMIN, N.; SCHWIKOWSKI, B.; IDEKER, T. Cytoscape: A software Environment for integrated models of biomolecular interaction networks. **Genome Research**, v. 13, n. 11, p. 2498–2504, 2003.

SHEVCHENKO, A.; TOMAS, H.; HAVLIS, J.; OLSEN, J. V; MANN, M. In-gel digestion for mass spectrometric characterization of proteins and proteomes. **Nature Protocols**, v. 1, n. 6, p. 2856–2860, 2006.

SILVA, A.; CORRÊA, G.; REIS, E. Proteomica-Uma Abordagem Funcional Do Estudo Do Genoma. **Saúde & Ambiente em Revista**, v. 2, n. 2, p. 1–10, 2007.

SINGH, S.; BROCKER, C.; KOPPAKA, V.; CHEN, Y.; JACKSON, B. C.; MATSUMOTO, A.; THOMPSON, D. C.; VASILIOU, V. Aldehyde dehydrogenases in cellular responses to oxidative/ electrophilicstress. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 56, p. 89–101, 2013.

SKOGSBERG, J.; LUNDSTRÖM, J.; KOVACS, A.; NILSSON, R.; NOORI, P.; MALEKI, S.; KÖHLER, M.; HAMSTEN, A.; TEGNÉR, J.; BJÖRKEGREN, J. Transcriptional profiling uncovers a network of cholesterol-responsive atherosclerosis target genes. **Plos Genetics**, v. 4, n. 3, 2008.

SNELLING, W. M.; ALLAN, M. F.; KEELE, J. W.; KUEHN, L. a.; THALLMAN, R. M.; BENNETT, G. L.; FERRELL, C. L.; JENKINS, T. G.; FREETLY, H. C.; NIELSEN, M. K.; ROLFE, K. M. Partial-genome evaluation of postweaning feed intake and efficiency of crossbred beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 6, p. 1731– 1741, 2011.

SOFTIC, S.; GUPTA, M. K.; WANG, G.; FUJISAKA, S.; O'NEILL, B. T.; RAO, T. N.; WILLOUGHBY, J.; HARBISON, C.; FITZGERALD, K.; ILKAYEVA, O.; NEWGARD, C. B.; COHEN, D. E.; KAHN, C. R. Divergent effects of glucose and fructose on hepatic lipogenesis and insulin signaling. **Journal of Clinical Investigation**, v. 127, n. 11, p. 4059–4074, 2017.

SPICKETT, C. M. The lipid peroxidation product 4-hydroxy-2-nonenal: Advances in chemistry and analysis. **Redox Biology**, v. 1, n. 1, p. 145–152, 2013.

STEPANOVA, M.; HOSSAIN, N.; AFENDY, A.; PERRY, K.; GOODMAN, Z. D.; BARANOVA, A.; YOUNOSSI, Z. Hepatic gene expression of Caucasian and African-American patients with obesity-related non-alcoholic fatty liver disease. **Obesity Surgery**, v. 20, n. 5, p. 640–650, 2010.

SUN, L.; YE, R. D. Role of G protein-coupled receptors in inflammation. **Nature Publishing Group**, v. 33, n. 3, p. 342–350, 2012.

SUPEK, F.; BOSNJAK, M.; SKUNCA, N.; SMUC, T. REVIGO Summarizes and Visualizes Long Lists of Gene Ontology Terms. **Plos One**, v. 6, n. 7, p. 1–9, 2011.

SZKLARCZYK, D.; FRANCESCHINI, A.; WYDER, S.; FORSLUND, K.; HELLER, D.; HUERTA-CEPAS, J.; SIMONOVIC, M.; ROTH, A.; SANTOS, A.; TSAFOU, K. P.; KUHN, M.; BORK, P.; JENSEN, L. J.; VON MERING, C. STRING v10: Proteinprotein interaction networks, integrated over the tree of life. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. D1, p. D447–D452, 2015.

SZKLARCZYK, D.; MORRIS, J. H.; COOK, H.; KUHN, M.; WYDER, S.; SIMONOVIC, M.; SANTOS, A.; DONCHEVA, N. T.; ROTH, A.; BORK, P.; JENSEN, L. J.; VON

MERING, C. The STRING database in 2017: quality-controlled protein–protein association networks, made broadly accessible. **Nucleic Acids Research**, v. 45, n. D1, p. D362–D368, 2017.

TALAMO, F.; D'AMBROSIO, C.; ARENA, S.; DEL VECCHIO, P.; LEDDA, L.; ZEHENDER, G.; FERRARA, L.; SCALONI, A. Proteins from bovine tissues and biological fluids: Defining a reference electrophoresis map for liver, kidney, muscle, plasma and red blood cells. **Proteomics**, v. 3, n. 4, p. 440–460, 2003.

TAVAKOLI, S.; SHORT, J. D.; DOWNS, K.; NGUYEN, H. N.; LAI, Y.; ZHANG, W.; JERABEK, P.; GOINS, B.; SADEGHI, M. M.; ASMIS, R. Differential regulation of macrophage glucose metabolism by macrophage colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: Implications for ¹⁸F-FDG PET imaging of vessel wall inflammation. **Radiology**, v. 283, n. 1, p. 87–97, 2017.

TAVAKOLI, S.; ZAMORA, D.; ULLEVIG, S.; ASMIS, R. Bioenergetic profiles diverge during macrophage of ¹⁸F-FDG PET imaging of atherosclerosis. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 54, p. 1661–1667, 2013.

THÉVENOT, E. A.; ROUX, A.; XU, Y.; EZAN, E.; JUNOT, C. Analysis of the human adult urinary metabolome variations with age, body mass index, and gender by implementing a comprehensive workflow for univariate and OPLS Statistical Analyses. **Journal of Proteome Research**, v. 14, n. 8, p. 3322–3335, 2015.

THOLEY, A.; TAYLOR, N. L.; HEAZLEWOOD, J. L.; BENDIXEN, E. We are not alone: The iMOP initiative and its roles in a biology- and disease-driven Human Proteome Project. **Journal of Proteome Research**, v. 16, n. 12, p. 4273–4280, 2017.

TIAN, T.; LIU, Y.; YAN, H.; YOU, Q.; YI, X.; DU, Z.; XU, W.; SU, Z. AgriGO v2.0: A GO analysis toolkit for the agricultural community, 2017 update. **Nucleic Acids Research**, v. 45, n. W1, p. W122–W129, 2017.

TIZIOTO, P. C.; COUTINHO, L. L.; DECKER, J. E.; SCHNABEL, R. D.; ROSA, K. O.; OLIVEIRA, P. S. N.; SOUZA, M. M.; MOURÃO, G. B.; TULLIO, R. R.; CHAVES, A. S.; LANNA, D. P. D.; ZERLOTINI-NETO, A.; MUDADU, M. A.; TAYLOR, J. F.; REGITANO, L. C. A. Global liver gene expression differences in Nelore steers with divergent residual feed intake phenotypes. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, p. 1–14, 2015.

TIZIOTO, P. C.; COUTINHO, L. L.; OLIVEIRA, P. S. N.; CESAR, A. S. M.; DINIZ, W. J. S.; LIMA, A. O.; ROCHA, M. I.; DECKER, J. E.; SCHNABEL, R. D.; MOURÃO, G. B.; TULLIO, R. R.; ZERLOTINI, A.; TAYLOR, J. F.; REGITANO, L. C. A. Gene expression differences in *Longissimus* muscle of Nelore steers genetically divergent for residual feed intake. **Scientific Reports**, v. 6, 12p., 2016.

TSUJITA, T.; KANG, D.; MOON, M. H.; OHNO, N.; INOUE, T.; MATSUMOTO, M.; KAJI, Y.; YAMAGUCHI, Y. Large-Scale Identification by Shotgun Proteomics of Proteins Expressed in Porcine Liver and Salivary Gland. **Zoological Science**, v. 25, n. 2, p. 129–138, 2008.

TYANOVA, S.; TEMU, T.; COX, J. The MaxQuant computational platform for mass spectrometry-based shotgun proteomics. **Nature Protocols**, v. 11, n. 12, p. 2301–2319, 2016.

TYANOVA, S.; TEMU, T.; SINITCYN, P.; CARLSON, A.; HEIN, M. Y.; GEIGER, T.; MANN, M.; COX, J. The Perseus computational platform for comprehensive analysis of (prote)omics data. **Nature Methods**, v. 13, n. 9, p. 731–740, 2016.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Livestock and poultry: world markets and trade, April, 2018. Disponível em:

https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2018.

VALLE, A.; SILVESTRI, E.; MORENO, M.; CHAMBERY, A.; OLIVER, J.; ROCA, P.; GOGLIA, F. Combined Effect of gender and caloric restriction on liver proteomic expression profile. **Journal of Proteome Research**, v. 7, n. 7, p. 2872–2881, 2008.

VAN VELDHOVEN, P. P. Biochemisrty and genetics of inherited disorders of peroxisomal fatty acid metabolism. **Journal of Lipid Research**, v. 51, n. 1, p. 2863–2895, 2010.

VASAN, R. S. Biomarkers of cardiovascular disease: Molecular basis and practical considerations. **Circulation**, v. 113, n. 19, p. 2335–2362, 2006.

VILLARROYA, F.; IGLESIAS, R.; GIRALT, M. Retinoids and retinoid receptors in the control of energy balance: novel pharmacological strategies in obesity and diabetes. **Current Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 6, p. 795–805, 2004.

VINCENT, A.; LOUVEAU, I.; GONDRET, F.; TRÉFEU, C.; GILBERT, H.; LEFAUCHEUR, L. Divergent selection for residual feed intake affects the transcriptomic and proteomic profiles of pig skeletal muscle. **Journal of Animal Science**, v. 93, p. 2745–2758, 2015.

VISINONI, S.; KHALID, N. F. I.; JOANNIDES, C. N.; SHULKES, A.; YIM, M.; WHITEHEAD, J.; TIGANIS, T.; LAMONT, B. J.; FAVALORO, J. M.; PROIETTO, J.; ANDRIKOPOULOS, S.; FAM, B. C. The role of liver fructose-1,6-bisphosphatase in regulating appetite and adiposity. **Diabetes**, v. 61, n. 5, p. 1122–1132, 2012.

VOGEL, A.; VAN DEN BERG, I. E. T.; AL-DHALIMY, M.; GROOPMAN, J.; OU, C.-N.; RYABININA, O.; IORDANOV, M. S.; FINEGOLD, M.; GROMPE, M. Chronic liver disease in murine hereditary tyrosinemia type 1 induces resistance to cell death. **Hepatology**, v. 39, n. 2, p. 433–443, 2004.

WANG, B.; FENG, P.; XIAO, Z.; REN, E. C. LIM and SH3 protein 1 (Lasp1) is a novel p53 transcriptional target involved in hepatocellular carcinoma. **Journal of Hepatology**, v. 50, n. 3, p. 528–537, 2009.

WEBER, K. L.; WELLY, B. T.; VAN EENENNAAM, A. L.; YOUNG, A. E.; PORT-NETO, L. R.; REVERTER, A.; RINCON, G. Identification of gene networks for residual feed intake in Angus cattle using genomic prediction and RNA-seq. **Plos One**, v. 11, n. 3, p. 1–19, 2016. WIDMANN, P.; REVERTER, A.; WEIKARD, R.; SUHRE, K.; HAMMON, H. M.; ALBRECHT, E.; KUEHN, C. Systems biology analysis merging phenotype, metabolomic and genomic data identifies Non-SMC Condensin I Complex, Subunit G (NCAPG) and cellular maintenance processes as major contributors to genetic variability in Bovine feed efficiency. **Plos One**, v. 10, n. 4, p. 1–22, 2015.

WILKINS, M. R.; PASQUALI, C.; APPEL, R. D.; OU, K.; GOLAZ, O.; SANCHEZ, J. C.; YAN, J. X.; GOOLEY, A. A.; HUGHES, G.; HUMPHERY-SMITH, I.; WILLIAMS, K. L.; HOCHSTRASSER, D. F. From proteins to proteomes: Large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. **Bio/Technology**, v. 14, n. 1, p. 61–65, 1996.

XU, C.; LIN, F.; QIN, S. Relevance between lipid metabolism-associated genes and rat liver regeneration. **Hepatology Research**, v. 38, n. 8, p. 825–837, 2008.

XU, C.; WANG, Z.; LIU, G.; LI, X.; XIE, G.; XIA, C.; ZHANG, H. you. Metabolic characteristic of the liver of dairy cows during ketosis based on comparative proteomics. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 21, n. 7, p. 1003–1010, 2008.

YING, W.; JIANG, Y.; GUO, L.; HAO, Y.; ZHANG, Y.; WU, S.; ZHONG, F.; WANG, J.; SHI, R.; LI, D.; WAN, P.; LI, X.; WEI, H.; LI, J.; WANG, Z.; XUE, X.; CAI, Y.; ZHU, Y.; QIAN, X.; HE, F. A dataset of human fetal liver proteome identified by subcellular fractionation and multiple protein separation and identification technology. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 5, n. 9, p. 1703–1707, 2006.

ZAHA, A. Controle da expressão gênica em eucariotos. In: ZAHA, A.; FERREIRA, H.B.; PASSAGLIA, L.M.P. (Org.). **Biologia molecular básica**. Porto Alegre: Artmed, 2014. cap. 14, p. 301-318.

ZAPATA, I.; WICK, M. Eletrophoreses-based proteomic meat animal research. **Food Technology and Biotechnology**, v. 50, n. 3, p. 261–269, 2012.

ZAREK, C. M.; LINDHOLM-PERRY, A. K.; KUEHN, L. A.; FREETLY, H. C. Differential expression of genes related to gain and intake in the liver of beef cattle. **BMC Research Notes**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 2017.

ZHANG, A.; SUN, H.; WU, G.; SUN, W.; YUAN, Y.; WANG, X. Proteomics analysis of hepatoprotective effects for scoparone using MALDI-TOF/TOF mass spectrometry with bioinformatics. **OMICS: A Journal of Integrative Biology**, v. 17, n. 4, p. 224–229, 2013.

ZHANG, B.; HORVATH, S. A general framework for weighted gene co-expression network analysis. **Statistical applications in genetics and molecular biology**, v. 4, n. 1, 2005.

ZHENG, R.; DRAGOMIR, A. C.; MISHIN, V.; RICHARDSON, J. R.; HECK, D. E.; LASKIN, D. L.; LASKIN, J. D. Differential metabolism of 4-hydroxynonenal in liver, lung and brain of mice and rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 279, n. 1, p. 43–52, 2014. APÊNDICES

APÊNDICE A - Termos de ontologia gênica enriquecidos (p-ajust < 0,05) para função molecular das proteínas hepáticas diferencialmente abundantes entre bovinos Nelore classificados quanto à eficiência alimentar.

GO ID ¹	Descrição	NP ²	p-ajust ³	Genes⁴
GO:0019899	enzyme binding	8	3,00X10 ⁻¹²	HSPA8; UBE2N; PPIB; CYB5A; TPI1;
	, .		·	SULT1A1; ADH6; PNP; PTGR1;
				ALDH1A1; ALDH1L1; MDH2; TPI1;
GO·0003824	catalytic activity	27	9 70X10-5	HSPA1A; <u>KHK; PPIB;</u> ERP29; BHMT; HMGCS2: SHMT1: ALDOB: HIBCH:
00.0003024	catalytic activity	21	5,70/10	LOC540707; HSPA8; PRDX2; GSTM1;
				FBP1; <u>ACADS</u> ; HSD17B4; <u>FMO3</u> ; MYH9;
				<u>FAN</u> FMO3; PRDX2; ALDH1A1; ALDH1L1;
GO:0016491	oxidoreductase	10	2,90X10 ⁻⁴	MDH2; LOC540707; HSD17B4; ACADS;
				ADH6; PTGR1 BCAP31: PLEC: HSPA8: LIBE2N: PPIB:
CO:0005515	protoin hinding	15	2 50 10-3	LASP1; <u>CYB5A</u> ; FBP1; <u>TPI1</u> ; CALR;
GO.0005515	protein binding	15	2,50×10 -	CLTC; SLC9A3R1; HSPA1A; MYH9;
				HSD17B4

¹GO ID: identificação do termo pelo Gene Ontology; ²NP: número de proteínas identificadas por termo; ³p-ajust: p-valor corrigido pelo método de Bonferroni; ⁴Genes: símbolos dos genes codificadores das proteínas.

.

APÊNDICE B - Termos de ontologia gênica enriquecidos (p-ajust < 0,05) para processos biológicos das proteínas hepáticas diferencialmente abundantes entre amostras de fígado de bovinos Nelore classificados quanto à eficiência alimentar. Continua...

GO ID ¹	Descrição	NP ²	p-ajust³	Genes⁴
GO:0065008	regulation of biological quality	13	1,50X10 ⁻¹³	BCAP31; <u>HSPA8; SLC39A10; PPIB;</u> <u>ALDH1A1;</u> FBP1; CALR; HSD17B4; <u>ACADS;</u> SLC9A3R1; HSPA1A; MYH9; <u>PRDX2</u>
GO:0042180	cellular ketone metabolic process	12	9,40X10 ⁻¹²	ALDH1L1; MDH2; FBP1; <u>TPI1;</u> BHMT; ACADS; HIBCH; <u>LOC540707;</u> SHMT1; <u>PTGR1; FAH;</u> HSD17B4
GO:0044248	cellular catabolic process	12	7,20X10 ⁻¹¹	<u>ALDOB;</u> UBE2N; <u>ALDH1L1;</u> <u>MDH2</u> ; FBP1; <u>TPI1;</u> BHMT; <u>ACADS;</u> HIBCH; MYH9; <u>FAH</u> ; HSD17B4
GO:0044265	cellular macromolecule catabolic process	5	7,00X10 ⁻³	FBP1; <u>TPI1;</u> UBE2N; <u>ALDOB;</u> MYH9
GO:0032787	monocarboxylic acid metabolic process	8	1,80X10 ⁻¹⁰	ALDH1L1; FBP1; TPI1; HSD17B4; ACADS; HIBCH; LOC540707; PTGR1
GO:0043436	oxoacid metabolic process	12	7,80X10 ⁻¹²	<u>ALDH1L1; MDH2; FBP1; IPI1; BHM1; ACADS;</u> HIBCH; <u>LOC540707;</u> SHMT1; <u>PTGR1; FAH;</u> HSD17B4
GO:0019752	carboxylic acid metabolic process	12	7,80X10 ⁻¹²	<u>ALDH1L1; MDH2; FBP1; TPI1; BHMT; ACADS;</u> HIBCH; <u>LOC540707</u> ; SHMT1; <u>PTGR1</u> ; <u>FAH</u> ; HSD17B4
GO:0048519	negative regulation of biological process	7	3,00X10 ⁻⁹	HSPA8; SLC39A10; SLC25A4; ERP29; FBP1; SLC9A3R1; HSPA1A
GO:0048518	positive regulation of biological process	6	1,40X10 ⁻⁸	HSPA1A; <u>SLC39A10;</u> UBE2N; <u>PPIB;</u> ERP29; <u>HSPA8</u>
GO:0044237	cellular metabolic process	29	2,80X10 ⁻⁷	<u>ALDOB; SLC25A4;</u> SLC9A3R1; <u>PNP;</u> <u>PTGR1; RPL11;</u> UBE2N; <u>ALDH1A1;</u> <u>ALDH1L1; MDH2; TPI1;</u> CALR; HSPA1A; <u>KHK;</u> RRBP1; <u>PPIB;</u> ERP29; BHMT; HMGCS2; SHMT1; <u>ACADS;</u> HIBCH; <u>LOC540707; PRDX2;</u> FBP1; HSD17B4;
GO:0044093	positive regulation of molecular function	5	3,30X10 ⁻⁷	<u>HSPA8;</u> MYH9; <u>FAH</u> SLC9A3R1; BCAP31; ERP29; HSPA1A; UBE2N ALDOB; SLC25A4; LOC540707;
GO:0008152	metabolic process	33	5,50X10 ⁻⁷	SLC9A3R1; <u>PNP; PTGR1; RPL11;</u> UBE2N; <u>ALDH1A1; ALDH1L1; MDH2; TPI1;</u> CALR; HSPA1A; <u>KHK;</u> RRBP1; <u>PPIB;</u> ERP29; <u>CYB5A;</u> BHMT; HMGCS2; SHMT1; <u>ACADS;</u> HIBCH; <u>ADH6; HSPA8; PRDX2; GSTM1;</u> FBP1; HSD17B4; <u>FMO3;</u> MYH9; <u>FAH</u>
GO:0048731	system development	5	7,90X10 ⁻⁷	SLC9A3R1; MYH9; HSD17B4; RRBP1; PPIB
GO:0048856	anatomical structure development	5	1,30X10 ⁻⁵	SLC9A3R1; MYH9; HSD17B4; RRBP1; <u>PPIB</u>
GO:0007275	multicellular organism development	6	7,60X10 ⁻⁵	RRBP1; <u>PPIB; TPI1;</u> HSD17B4; SLC9A3R1; MYH9
GO:0034641	compound metabolic process	7	1,10X10 ⁻⁶	<u>ALDH1L1;</u> BHMT; SHMT1; HIBCH; <u>PNP;</u> <u>TPI1; FAH</u>
GO:0055114	oxidation-reduction process	8	3,00X10 ⁻⁶	<u>FMO3; PRDX2; CYB5A; ALDH1A1;</u> <u>ALDH1L1; LOC540707; ADH6; PTGR1</u>
GO:0032501	multicellular organismal process	8	3,30X10 ⁻⁶	BCAP31; RRBP1; <u>PPIB; TPI1;</u> HSD17B4; SLC9A3R1; HSPA1A; MYH9

APÊNDICE B - Termos de ontologia gênica enriquecidos (p-ajust < 0,05) para processos biológicos das proteínas hepáticas diferencialmente abundantes entre amostras de fígado de bovinos Nelore classificados quanto à eficiência alimentar.

continuação...

GO ID ¹	Descrição	NP ²	p-ajust ³	Genes ⁴
GO:0033036	macromolecule localization	8	8,00X10 ⁻⁶	BCAP31; <u>RPL11;</u> RRBP1; ERP29; HNRNPA3; CLTC; SLC9A3R1; MYH9
GO:0006810	transport	11	4,40X10 ⁻²	LASP1; <u>SLC39A10;</u> RRBP1; <u>SLC25A4;</u> LASP1; ERP29; HNRNPA3; CLTC; SLC9A3R1; MYH9; <u>RPL11</u>
GO:0044255	cellular lipid metabolic process	7	9,60X10 ⁻⁶	<u>ALDH1A1;</u> HMGCS2; HSD17B4; <u>ACADS;</u> HIBCH; <u>LOC540707;</u> <u>PTGR1</u>
GO:0006631	fatty acid metabolic process	5	6,20X10 ⁻⁶	LOC540707; PIGR1; HSD17B4; <u>ACADS;</u> HIBCH ALDOB: UBE2N: ALDH1L1: MDH2:
GO:0009056	catabolic process	12	8,40X10 ⁻⁵	FBP1; <u>TPI1;</u> BHMT; <u>ACADS;</u> HIBCH; MYH9; <u>FAH</u> ; HSD17B4
GO:0008104	protein localization	7	1,10X10 ⁻⁴	BCAP31; <u>RPL11;</u> RRBP1; ERP29; CLTC; SLC9A3R1; MYH9
GO:0045184	establishment of protein localization	6	1,20X10 ⁻³	<u>RPL11;</u> RRBP1; ERP29; CLTC; SLC9A3R1; MYH9
GO:0015031	protein transport	5	1,50X10 ⁻²	ERP29; MYH9; CLTC; RRBP1; <u>RPL11</u>
GO:0044238	primary metabolic process	27	2,40X10 ⁻⁴	<u>ALDOB; SLC25A4;</u> SLC9A3R1; <u>PNP;</u> <u>PTGR1; RPL11;</u> UBE2N; <u>ALDH1A1;</u> <u>MDH2; TPI1;</u> CALR; HSPA1A; <u>KHK;</u> RRBP1; <u>PPIB;</u> ERP29; BHMT; HMGCS2; SHMT1; <u>ACADS;</u> HIBCH; <u>LOC540707;</u> FBP1; HSD17B4; <u>HSPA8;</u> MYH9; <u>FAH</u>
GO:0042592	homeostatic process	5	1,60X10 ⁻³	SLC9A3R1; BCAP31; <u>SLC39A10;</u> ACADS; PRDX2
GO:0032502	developmental process	6	1,80X10 ⁻³	RRBP1; <u>PPIB; TPI1;</u> HSD17B4; SLC9A3R1; MYH9
GO:0051641	cellular localization	6	2,30X10 ⁻³	BCAP31; <u>RPL11;</u> ERP29; CLTC; SLC9A3R1; MYH9
GO:0009966	regulation of signal transduction	6	2,40X10 ⁻³	<u>SLC39A10;</u> UBE2N; ERP29; FBP1; SLC9A3R1; HSPA1A
GO:0010646	regulation of cell communication	6	2,40X10 ⁻³	<u>SLC39A10;</u> UBE2N; ERP29; FBP1; SLC9A3R1; HSPA1A
GO:0046907	intracellular transport	5	1,30X10 ⁻²	BCAP31; ERP29; MYH9; CLTC; <u>RPL11</u>
GO:0046483	heterocycle metabolic process nucleobase-	5	1,90X10 ⁻²	SLC9A3R1; <u>PNP;</u> HSPA1A; <u>ALDH1L1;</u> <u>HSPA8</u>
GO:0055086	containing small molecule metabolic process	5	2,50X10 ⁻²	SLC9A3R1; <u>PNP; TPI1;</u> HSPA1A; <u>HSPA8</u>
GO:0006082	organic acid metabolic process	12	7,80X10 ⁻¹²	<u>ALDH1L1; MDH2; FBP1; TP11; BHMT;</u> <u>ACADS; HIBCH; LOC540707; SHMT1;</u> <u>PTGR1; FAH</u> ; HSD17B4 <u>ALDOB; SLC25A4; LOC540707; PNP;</u> <u>PTGR1; BCAP31; SLC39A10; UBE2N;</u>
GO:0009987	cellular process	33	3,60X10 ⁻²	ALDH1A1; ALDH1L1; MDH2; TPI1; CALR; HSPA1A; <u>KHK;</u> PLEC; RRBP1; <u>PPIB;</u> ERP29; BHMT; HMGCS2; SHMT1; CLTC; <u>ACADS;</u> HIBCH; SLC9A3R1; <u>RPL11; PRDX2;</u> FBP1; HSD17B4; <u>HSPA8;</u> MYH9; <u>FAH</u>

APÊNDICE B - Termos de ontologia gênica enriquecidos (p-ajust < 0,05) para processos biológicos das proteínas hepáticas diferencialmente abundantes entre amostras de fígado de bovinos Nelore classificados quanto à eficiência alimentar.

		-		conclusão.
GO ID ¹	Descrição	NP ²	p-ajust ³	Genes⁴
 GO:0044085	cellular component biogenesis	6	4,90X10 ⁻²	PLEC; <u>RPL11;</u> FBP1; SHMT1; SLC9A3R1; HSPA1A
GO:0016043	cellular component organization	9	1,80X10 ⁻³	PLEC; <u>RPL11;</u> UBE2N; <u>SLC25A4;</u> FBP1; SHMT1; SLC9A3R1; HSPA1A; MYH9
GO:0022607	cellular component assembly	6	3,60X10 ⁻²	PLEC; <u>RPL11;</u> FBP1; SHMT1; SLC9A3R1; HSPA1A
GO:0051179	localization	11	4,90X10 ⁻²	BCAP31; <u>SLC39A10;</u> RRBP1; <u>SLC25A4;</u> LASP1; ERP29; HNRNPA3; CLTC; SLC9A3R1; MYH9; RPL11

¹GO ID: identificação do termo pelo Gene Ontology; ²NP: número de proteínas identificadas por termo; ³p-ajust: p-valor corrigido pelo método de Bonferroni; ⁴Genes: símbolos dos genes codificadores das proteínas. Os termos em itálico correspondem àqueles classificados como redundantes por similaridade semântica, identificados pelo programa REVIGO.

	Deseriaño		n aivat3	Containda
GO ID'	Descrição	NP ²	p-ajust ³	Genes
GO:0031982	vesicle	19	8,80X10- ³⁴	PLEC; <u>RPL11</u> ; UBE2N; <u>PPIB</u> ; LASP1; ERP29; <u>CYB5A</u> ; <u>ALDH1A1</u> ; BHMT; MYH9; FBP1; <u>TPI1</u> ; CLTC; SLC9A3R1; PGRMC1; <u>HSPA8</u> ; <u>KHK</u> ; <u>FAH; PRDX2</u>
GO:0005737	cytoplasm	36	3,50X10- ³²	ALDOB; SLC25A4; PNP; PTGR1; BCAP31; <u>RPL11</u> ; UBE2N; PGRMC1; LASP1; <u>ALDH1A1</u> ; <u>ALDH1L1</u> ; <u>MDH2</u> ; <u>TPI1</u> ; CALR; HNRNPA3; HSPA1A; <u>KHK</u> ; PLEC; RRBP1; <u>PPIB</u> ; ERP29; <u>CYB5A</u> ; BHMT; HMGCS2; SHMT1; CLTC; <u>ACADS</u> ; HIBCH; SLC9A3R1; <u>HSDL2</u> ; <u>HSPA8</u> ; <u>PRDX2</u> ; FBP1; HSD17B4; EMO3; MYH9
GO:0044421	extracellular region part	18	3,00X10- ²⁴	PLEC; <u>RPL11</u> ; UBE2N; <u>PPIB</u> ; LASP1; ERP29; <u>CYB5A</u> ; <u>ALDH1A1</u> ; BHMT; MYH9; FBP1; <u>TPI1</u> ; SLC9A3R1; PGRMC1; <u>HSPA8</u> ; <u>KHK</u> ; <u>FAH</u> ; <u>PRDX2</u>
GO:0044444	cytoplasmic part	28	1,90X10- ²²	<u>ALDOB; SLC25A4;</u> BCAP31; <u>RPL11;</u> LASP1; <u>MDH2; TPI1;</u> CALR; PGRMC1; HSPA1A; PLEC; RRBP1; <u>PPIB;</u> ERP29; <u>CYB5A;</u> BHMT; HMGCS2; SHMT1; CLTC; <u>ACADS;</u> HIBCH; SLC9A3R1; <u>HSDL2;</u> <u>HSPA8;</u> FBP1; HSD17B4; <u>FMO3;</u> MYH9
GO:0043227	membrane-bounded organelle	31	8,80X10- ¹⁸	<u>SLC25A4;</u> BCAP31; <u>RPL11;</u> UBE2N; LASP1; <u>ALDH1A1;</u> <u>MDH2;</u> <u>TPI1;</u> CALR; PGRMC1; <u>KHK;</u> PLEC; RRBP1; <u>PPIB;</u> ERP29; <u>CYB5A;</u> BHMT; HNRNPA3; HMGCS2; CLTC; <u>ACADS;</u> HIBCH; SLC9A3R1; <u>HSDL2;</u> <u>HSPA8;</u> <u>PRDX2;</u> FBP1; HSD17B4; EMO3; MYH9; EAH
GO:0044422	organelle part	22	7,00X10- ¹⁵	ACADS; SLC25A4; BCAP31; <u>RPL11;</u> UBE2N; <u>MDH2</u> ; CALR; PGRMC1; HSPA1A; RRBP1; <u>PPIB</u> ; ERP29; <u>CYB5A</u> ; HNRNPA3; HMGCS2; CLTC; <u>ALDOB</u> ; SLC9A3R1; <u>HSPA8</u> ; HSD17B4; <u>FMO3</u> ; MYH9
GO:0043229	intracellular organelle	28	1,60X10 ⁻¹⁰	ALDOB; SLC25A4; PNP; BCAP31; RPL11; UBE2N; LASP1; MDH2; TPI1; CALR; PGRMC1; HSPA1A; PLEC; RRBP1; PPIB; ERP29; CYB5A; HNRNPA3; HMGCS2; CLTC; ACADS; HIBCH; SLC9A3R1; HSDI 2: HSPA8: HSD17B4: FMO3: MYH9
GO:0043231	intracellular membrane-bounded organelle	23	4,40X10 ⁻⁹	<u>SLC25A4;</u> BCAP31; <u>RPL11;</u> UBE2N; <u>MDH2; TPI1;</u> CALR; HNRNPA3; PGRMC1; RRBP1; <u>PPIB;</u> ERP29; <u>CYB5A</u> ; HMGCS2; CLTC; <u>ACADS</u> ; HIBCH; SLC9A3R1; HSDL2; FMO3; HSD17B4; HSPA8; MYH9
GO:0043228	non-membrane- bounded organelle	12	1,00X10 ⁻³	PLEC; <u>HSPA8</u> ; RRBP1; UBE2N; LASP1; <u>ALDOB</u> ; SLC9A3R1; PGRMC1; <u>PNP</u> ; HSPA1A; MYH9; <u>RPL11</u>

APÊNDICE C - Termos de ontologia gênica enriquecidos (p-ajust < 0,05) para componentes celulares das proteínas hepáticas diferencialmente abundantes entre amostras de fígado de bovinos Nelore classificados quanto à eficiência alimentar. APÊNDICE C - Termos de ontologia gênica enriquecidos (p-ajust < 0,05) para componentes celulares das proteínas hepáticas diferencialmente abundantes entre amostras de fígado de bovinos Nelore classificados quanto à eficiência alimentar. conclusão.

GO ID ¹	Descrição	NP ²	p-ajust³	Genes⁴
GO:0043226	organelle	34	3,60X10- ¹⁷	ALDOB; SLC25A4; PNP; BCAP31; <u>RPL11;</u> UBE2N; PGRMC1; LASP1; <u>ALDH1A1;</u> <u>MDH2;</u> <u>TPI1</u> ; CALR; HNRNPA3; HSPA1A; <u>KHK;</u> PLEC; RRBP1; <u>PPIB;</u> ERP29; <u>CYB5A;</u> BHMT; HMGCS2; CLTC; <u>ACADS;</u> HIBCH; SLC9A3R1; <u>HSDL2;</u> <u>HSPA8;</u> <u>PRDX2;</u> FBP1; HSD17B4; <u>FMO3;</u> MYH9; <u>FAH</u>
GO:0070013	intracellular organelle lumen	10	5,40X10- ¹⁴	<u>RPL11;</u> UBE2N; <u>PPIB</u> ; ERP29; <u>MDH2;</u> HNRNPA3; <u>ACADS</u> ; PGRMC1; CALR; <u>HSPA8</u>
GO:0031090	organelle membrane	9	2,70X10 ⁻⁷	BCAP31; RRBP1; <u>SLC25A4; CYB5A;</u> HMGCS2; CLTC; PGRMC1; <u>FMO3;</u> HSD17B4
GO:0031981	nuclear lumen	5	1,50X10⁻⁵	PGRMC1; <u>HSPA8;</u> HNRNPA3; <u>RPL11;</u> UBE2N
GO:0044428	nuclear part	6	4,70X10⁻⁵	<u>RPL11;</u> UBE2N; HNRNPA3; PGRMC1; HSPA8; MYH9
GO:0005829	cytosol	8	1,40X10 ⁻¹⁰	HSPA8; RPL11; BHMT; MYH9; FBP1; SHMT1; HSPA1A; TPI1
GO:0005739	mitochondrion	10	3,80X10 ⁻¹⁰	<u>HSDL2;</u> BCAP31; <u>SLC25A4; CYB5A;</u> <u>MDH2</u> ; HMGCS2; CLTC; <u>ACADS;</u> HIBCH; HSD17B4
GO:0005783	endoplasmic reticulum	8	6,20X10 ⁻⁹	BCAP31; RRBP1 <u>; PPIB</u> ; ERP29; CYB5A; CALR; PGRMC1; FMO3
GO:0005789	endoplasmic reticulum membrane	5	9,90X10 ⁻⁶	FMO3; BCAP31; CYB5A; RRBP1; PGRMC1
GO:0044459	plasma membrane part	10	1,70X10 ⁻⁷	BCAP31; PLEC; <u>HSPA8; SLC39A10;</u> <u>PPIB;</u> LASP1; CLTC; SLC9A3R1; HSPA1A; MYH9
GO:0030054	cell junction	6	4,10X10 ⁻⁷	PLEC; HSPA1A; <u>PPIB</u> ; LASP1; <u>HSPA8</u> ; MYH9
GO:0012505	endomembrane system	7	5,60X10 ⁻⁶	BCAP31; RRBP1; <u>CYB5A</u> ; CLTC; SLC9A3R1; PGRMC1; <u>FMO3</u>
GO:0005856	cytoskeleton	7	8,90X10 ⁻⁴	PLEC; LASP1; <u>ALDOB</u> ; SLC9A3R1; <u>PNP</u> ; HSPA1A; MYH9

¹GO ID: identificação do termo pelo Gene Ontology; ²NP: número de proteínas identificadas por termo; ³p-ajust: p-valor corrigido pelo método de Bonferroni; ⁴Genes: símbolos dos genes codificadores das proteínas. Os termos em itálico correspondem àqueles classificados como redundantes por similaridade semântica, identificados pelo programa REVIGO. APÊNDICE D – Valores de significância da proteína e seus respectivos p-valores para os indicadores de eficiência alimentar das proteínas diferencialmente abundantes entre amostras de fígado de bovinos Nelore classificados quanto à eficiência, inseridas em módulos de co-expressão não correlacionados com este fenótipo.

Uniprot ID ¹	Gene	Nome da Proteína	Módulo	SP-CGR ²	p-valor SP-CGR	SP-CAR ³	p-valor SP-CAR
E1BF59	PLEC	Plectina	Preto	0,63	2,90x10-02	-0,67	1,67x10-02
P81623	ERP29	Proteína 29 residente no retículo endoplasmático	Verde	0,61	3,59x10-02	-0,60	3,73x10-02
Q27975	HSPA1A	Proteína do choque térmico 70 kDa 1A	Verde	0,83	8,00x10-04	-0,83	9,01x10-02
Q0P5K3	UBE2N	Enzima E2N conjugada à ubiquitina	Verde	0,59	4,28x10-02	-0,59	4,39x10-02
Q51597	BHMT	Betainahomocisteína S-metiltransferase 1	Amarelo	0,76	3,89x10-03	-0,77	3,45x10-02
Q3SZB7	FBP1	Frutose-1,6-bisfosfatase 1	Amarelo	0,67	1,72x10-02	-0,66	1,96x10-02
F1MQ37	MYH9	Proteína não caracterizada	Amarelo	0,65	2,12x10-02	-0,63	2,70x10-02

¹Uniprot ID: código de identificação da proteína no banco de dados do UniprotKB; ²SP-CGR: significância da proteína para consumo e ganho residual; ³SP-CAR: significância da proteína para consumo alimentar residual.

	0.000					RARA4		1/15	<u> </u>
	Gene	SP-CGR ²	p-valor SP-CGR	SP-CAR*	p-valor SP-CAR		p-valor wiw	KI	
Q3SZJ4	PTGR1	-0,73	6,75X10 ⁻³	0,71	9,75X10 ⁻³	0,89	1,13X10 ⁻⁴	1,92	
F1MM82	SLC39A10	-0,71	9,06X10 ⁻³	0,66	1,85X10 ⁻²	0,85	4,52X10⁻⁴	1,64	
P52556	BLVRB	-0,42	1,70X10 ⁻¹	0,41	1,80X10 ⁻¹	0,84	5,43X10 ⁻⁴	2,39	
Q5E956	TPI1	-0,61	3,58X10 ⁻²	0,57	5,38X10 ⁻²	0,84	6,29X10 ⁻⁴	1,61	
Q2KII0	ADH6	-0,60	3,96X10 ⁻²	0,58	4,87X10 ⁻²	0,84	6,41X10 ⁻⁴	2,04	
A5PK65	DDT	-0,46	1,29X10 ⁻¹	0,43	1,60X10 ⁻¹	0,81	1,38X10 ⁻³	2,07	
Q3ZBD3	PCBD1	-0,44	1,52X10 ⁻¹	0,43	1,63X10 ⁻¹	0,81	1,42X10 ⁻³	2,51	
Q3ZBF6	ACADS	-0,77	3,58X10 ⁻³	0,77	3,11X10⁻³	0,80	1,84X10 ⁻³	1,71	
A4FUD0	MTHFD1	-0,31	3,30X10 ⁻¹	0,23	4,65X10 ⁻¹	0,79	2,27X10 ⁻³	1,07	
Q3T0S5	ALDOB	-0,65	2,22X10 ⁻²	0,61	3,66X10 ⁻²	0,77	3,30X10⁻³	1,57	
A7YY67	ALDH1L1	-0,63	2,93X10 ⁻²	0,56	5,75X10 ⁻²	0,75	4,72X10 ⁻³	1,43	
Q3T114	RIDA	-0,20	5,26X10 ⁻¹	0,18	5,79X10 ⁻¹	0,75	4,80X10 ⁻³	1,64	
O97680	TXN	-0,51	8,71X10 ⁻²	0,50	1,01X10 ⁻¹	0,74	5,66X10 ⁻³	1,21	
Q01175	КНК	-0,65	2,09X10 ⁻²	0,64	2,47X10 ⁻²	0,74	6,11X10 ⁻³	1,20	
Q17QK4	EPHX2	-0,26	4,06X10 ⁻¹	0,25	4,35X10 ⁻¹	0,74	6,44X10 ⁻³	1,59	
A6QR28	PSAT1	-0,61	3,47X10 ⁻²	0,60	4,03X10 ⁻²	0,71	9,23X10 ⁻³	1,54	
Q5E9F7	CFL1	-0,32	3,14X10 ⁻¹	0,31	3,34X10 ⁻¹	0,71	9,68X10 ⁻³	1,85	
A5PKH3	FAH	-0,62	3,09X10 ⁻²	0,60	3,72X10 ⁻²	0,71	1,00X10 ⁻²	1,19	
Q9BGI3	PRDX2	-0,80	1,60X10⁻³	0,80	1,63X10⁻³	0,69	1,29X10 ⁻²	1,52	
A7YY28	ABHD14B	-0,25	4,41X10 ⁻¹	0,21	5,04X10 ⁻¹	0,69	1,31X10 ⁻²	1,50	
P00426	COX5A	-0,27	3,94X10 ⁻¹	0,21	5,09X10 ⁻¹	0,68	1,44X10 ⁻²	1,15	
Q9BGI2	PRDX4	-0,29	3,56X10 ⁻¹	0,25	4,32X10 ⁻¹	0,68	1,59X10 ⁻²	1,25	
Q3ZBT1	VCP	-0,26	4,24X10 ⁻¹	0,25	4,35X10 ⁻¹	0,67	1,69X10 ⁻²	1,24	
Q8HYJ9	FMO3	-0,70	1,21X10 ⁻²	0,71	9,56X10 ⁻³	0,66	1,99X10 ⁻²	1,41	
F1MFZ4	ADH4	-0,64	2,61X10 ⁻²	0,65	2,11X10 ⁻²	0,66	2,06X10 ⁻²	0,90	
P79134	ANXA6	-0,46	1,36X10 ⁻¹	0,41	1,83X10 ⁻¹	0,65	2,23X10 ⁻²	0,85	

APÊNDICE E - Valores de significância de proteína, filiação ao módulo e conectividade intramodular com seus respectivos p-valores para as proteínas coexpressas no módulo turquesa, significativamente correlacionado com os indicadores de eficiência alimentar (p-valor < 0,10).

ua...

APÊNDICE E – Valores de significância de proteína, filiação ao módulo e conectividade intramodular com seus respectivos p-valores para as proteínas coexpressas no módulo turquesa, significativamente correlacionado com os indicadores de eficiência alimentar (p-valor < 0,10).

conclusão.

Uniprot ID ¹	Gene	SP-CGR ²	p-valor SP-CGR	SP-CAR ³	p-valor SP-CAR	MM ⁴	p-valor MM	KI⁵
P00171	CYB5A	-0,82	9,82X10 ⁻⁴	0,81	1,39X10 ⁻³	0,65	2,24X10 ⁻²	0,97
P80311	PPIB	-0,69	1,32X10 ⁻²	0,68	1,57X10 ⁻²	0,65	2,31X10 ⁻²	0,83
P07107	DBI	-0,42	1,77X10 ⁻¹	0,39	2,15X10 ⁻¹	0,65	2,34X10 ⁻²	0,70
Q08D92	ACADL	-0,28	3,81X10 ⁻¹	0,30	3,43X10 ⁻¹	0,64	2,48X10 ⁻²	1,19
Q3T149	HSPB1	-0,58	4,73X10 ⁻²	0,56	5,57X10 ⁻²	0,64	2,55X10 ⁻²	1,04
E1BFN6	DPYS	-0,20	5,36X10 ⁻¹	0,16	6,17X10 ⁻¹	0,63	2,70X10 ⁻²	0,91
O46629	HADHB	-0,44	1,56X10 ⁻¹	0,39	2,06X10 ⁻¹	0,63	2,73X10 ⁻²	1,16
P05307	P4HB	-0,39	2,10X10 ⁻¹	0,39	2,12X10 ⁻¹	0,62	3,30X10 ⁻²	1,02

¹Uniprot ID: código de identificação da proteína no banco de dados do UniprotKB; ²SP-CGR: significância da proteína para consumo e ganho residual; ³SP-CAR: significância da proteína para consumo alimentar residual; ⁴MM; valor de filiação ao módulo; ⁵KI: conectividade intramodular. As proteínas destacadas em negrito foram diferencialmente abundantes entre amostras de fígado de bovinos Nelore classificados quanto à eficiência alimentar.

Uniprot ID ¹	Gene	SP-CGR ²	p-valor SP-CGR	SP-CAR ³	p-valor SP-CAR	MM ⁴	p-valor MM	KI⁵
A4IF97	MYL12B	-0,37	2,30X10 ⁻¹	0,44	1,52X10 ⁻¹	0,92	2,85X10 ⁻⁰⁵	2,37
F1MX88	SLC25A13	-0,43	1,64X10 ⁻¹	0,48	1,11X10 ⁻¹	0,88	1,63X10 ⁻⁴	1,13
Q28034	PRKCSH	-0,28	3,72X10 ⁻¹	0,35	2,60X10 ⁻¹	0,88	1,67X10 ⁻⁴	2,23
F1MJQ1	RAB7A	-0,60	4,03X10 ⁻²	0,67	1,65X10 ⁻²	0,84	5,94X10 ⁻⁴	0,81
P19120	HSPA8	-0,77	3,61X10 ⁻³	0,79	2,11X10 ⁻³	0,82	1,08X10 ⁻³	0,73
A4FUZ6	HSDL2	-0,59	4,21X10 ⁻²	0,62	3,00X10 ⁻²	0,82	1,08X10 ⁻³	0,70
A7E3W4	ТКТ	-0,54	6,82X10 ⁻²	0,55	6,56X10 ⁻²	0,81	1,48X10 ⁻³	0,74
P12234-2	SLC25A3	-0,15	6,34X10 ⁻¹	0,23	4,78X10 ⁻¹	0,80	1,94X10 ⁻³	1,75
P48034	AOX1	-0,45	1,42X10 ⁻¹	0,48	1,16X10 ⁻¹	0,71	1,03X10 ⁻²	0,34
Q32LG3	MDH2	-0,61	3,57X10 ⁻²	0,65	2,21X10 ⁻²	0,70	1,09X10 ⁻²	0,38
P48644	ALDH1A1	-0,67	1,71X10 ⁻²	0,70	1,13X10 ⁻²	0,68	1,46X10 ⁻²	0,31
A1A4M0	TIMM13	-0,37	2,38X10 ⁻¹	0,43	1,65X10 ⁻¹	0,67	1,67X10 ⁻²	0,39
F1MZP8	ENSBTAG000 00034189	-0,30	3,43X10 ⁻¹	0,30	3,39X10 ⁻¹	0,66	2,07X10 ⁻²	0,58
Q5EA61	CKB	-0,07	8,21X10 ⁻¹	0,11	7,26X10 ⁻¹	0,64	2,40X10 ⁻²	0,43
Q17R18	ADK	-0,54	7,16X10 ⁻²	0,52	8,10X10 ⁻²	0,64	2,64X10 ⁻²	0,41
Q9TTJ5	RGN	-0,54	7,07X10 ⁻²	0,57	5,20X10 ⁻²	0,61	3,46X10 ⁻²	0,31
A5D9H5	HNRNPD	-0,19	5,48X10 ⁻¹	0,23	4,62X10 ⁻¹	0,61	3,60X10 ⁻²	0,34
P55859	PNP	-0,76	3,79X10 ⁻³	0,76	3,84X10 ⁻³	0,58	4,73X10 ⁻²	0,43
Q3SZD7	CBR1	-0,28	3,73X10 ⁻¹	0,34	2,87X10 ⁻¹	0,57	5,44X10 ⁻²	0,23
Q95M40	TXNDC17	-0,26	4,08X10 ⁻¹	0,29	3,64X10 ⁻¹	0,57	5,48X10 ⁻²	0,19
Q2TBQ3	GAMT	0,00	9,99X10 ⁻¹	0,10	7,65X10 ⁻¹	0,46	1,36X10 ⁻¹	0,22

APÊNDICE F – Valores de significância de proteína, filiação ao módulo e conectividade intramodular com seus respectivos p-valores para as proteínas coexpressas no módulo vermelho, significativamente correlacionado com os indicadores de eficiência alimentar (p-valor < 0,10).

continua...
APÊNDICE F – Valores de significância de proteína, filiação ao módulo e conectividade intramodular com seus respectivos p-valores para as proteínas coexpressas no módulo vermelho, significativamente correlacionado com os indicadores de eficiência alimentar (p-valor < 0,10).

conclusão.

Uniprot ID ¹	Gene	SP-CGR ²	p-valor SP-CGR	SP-CAR ³	p-valor SP-CAR	MM^4	p-valor MM	KI⁵
Q29437	AOC3	-0,60	4,08X10 ⁻²	0,63	2,78X10 ⁻²	0,37	2,40X10 ⁻¹	0,17
E1BAJ4	STBD1	-0,39	2,08X10 ⁻¹	0,35	2,66X10 ⁻¹	0,32	3,13X10 ⁻¹	0,32
Q2KJ32	SELENBP1	0,10	7,68X10 ⁻¹	-0,05	8,84X10 ⁻¹	0,30	3,35X10 ⁻¹	0,07
Q3ZBV8	TARS	-0,25	4,29X10 ⁻¹	0,23	4,79X10 ⁻¹	0,23	4,64X10 ⁻¹	0,10

¹Uniprot ID: código de identificação da proteína no banco de dados do UniprotKB; ²SP-CGR: significância da proteína para consumo e ganho residual; ³SP-CAR: significância da proteína para consumo alimentar residual; ⁴MM; valor de filiação ao módulo; ⁵KI: conectividade intramodular. As proteínas destacadas em negrito foram diferencialmente abundantes entre amostras de fígado de bovinos Nelore classificados quanto à eficiência alimentar.

APÊNDICE G -	 Valores de significância de proteína, 	filiação ao módulo e conectivida	ade intramodular com seus	s respectivos p-valores para	as proteínas co-
	expressas no módulo marrom, signific	cativamente correlacionado com	os indicadores de eficiênc	cia alimentar (p-valor < 0,10)	

continua...

Uniprot ID ¹	Gene	SP-CGR ²	p-valor SP-CGR	SP-CAR ³	p-valor SP-CAR	MM^4	p-valor MM	KI⁵
Q95M18	HSP90B1	0,45	1,44X10 ⁻¹	-0,41	1,91X10 ⁻¹	0,96	4,82X10 ⁻⁰⁷	4,14
Q5E9B1	LDHB	0,46	1,32X10 ⁻¹	-0,44	1,48X10 ⁻¹	0,89	8,95X10 ⁻⁰⁵	2,96
Q2KIE6	HMGCS2	0,62	3,21X10 ⁻²	-0,58	4,92X10 ⁻²	0,88	1,51X10⁻⁴	2,36
Q2HJ73	HIBCH	0,61	3,66X10 ⁻²	-0,59	4,42X10 ⁻²	0,88	1,84X10 ⁻⁴	2,83
P68250-2	YWHAB	0,42	1,73X10 ⁻¹	-0,43	1,59X10 ⁻¹	0,86	3,24X10 ⁻⁴	2,71
A5PJE0	GSTA5	0,53	7,92X10 ⁻²	-0,51	9,25X10 ⁻²	0,86	3,33X10 ⁻⁴	2,66
Q3SZK8	SLC9A3R1	0,79	2,12X10 ⁻³	-0,77	3,64X10 ⁻³	0,85	3,96X10⁻⁴	2,83
Q0IIL6	HSD17B4	0,62	3,24X10 ⁻²	-0,62	3,14X10 ⁻²	0,85	4,00X10 ⁻⁴	2,52
Q58DW5	RPL5	0,49	1,09X10 ⁻¹	-0,43	1,62X10 ⁻¹	0,85	4,49X10 ⁻⁴	2,58
Q32KM0	ASGR1	0,59	4,44X10 ⁻²	-0,59	4,34X10 ⁻²	0,84	6,27X10 ⁻⁴	2,33
Q17QC0	PGRMC1	0,56	6,02X10 ⁻²	-0,51	9,01X10 ⁻²	0,83	8,46X10 ⁻⁴	2,04
P05786	KRT8	0,11	7,32X10 ⁻¹	-0,09	7,81X10 ⁻¹	0,82	1,20X10 ⁻³	2,53
A6QQ11	PGM2	0,24	4,57X10 ⁻¹	-0,24	4,46X10 ⁻¹	0,79	2,35X10 ⁻³	1,70
Q28035	GSTA1	0,44	1,48X10 ⁻¹	-0,43	1,66X10 ⁻¹	0,78	2,85X10 ⁻³	1,99
E1BEG2	HNRNPA3	0,66	1,87X10 ⁻²	-0,64	2,42X10 ⁻²	0,77	3,62X10 ⁻³	2,09
P68103	EEF1A1	0,32	3,04X10 ⁻¹	-0,27	3,98X10 ⁻¹	0,76	3,75X10 ⁻³	1,67
F1MB84	GRHPR	0,54	6,84X10 ⁻²	-0,54	6,91X10 ⁻²	0,76	4,29X10 ⁻³	1,22
A2VDL6	ATP1A2	0,45	1,39X10 ⁻¹	-0,44	1,56X10 ⁻¹	0,75	5,31X10 ⁻³	1,31
F1MDC1	RRBP1	0,72	7,68X10 ⁻³	-0,66	1,90X10 ⁻²	0,73	6,74X10 ⁻³	1,42
P52193	CALR	0,67	1,69X10 ⁻²	-0,62	3,12X10 ⁻²	0,73	7,38X10 ⁻³	1,13
F6S1Q0	KRT18	-0,05	8,86X10 ⁻¹	0,05	8,83X10 ⁻¹	0,71	9,39X10 ⁻³	1,86
A7Z035	CLINT1	0,46	1,30X10 ⁻¹	-0,39	2,08X10 ⁻¹	0,71	1,02X10 ⁻²	1,52
Q0V8D0	RDH16	0,23	4,77X10 ⁻¹	-0,18	5,73X10 ⁻¹	0,69	1,24X10 ⁻²	1,25
Q8SPU8	DHRS4	0,48	1,14X10 ⁻¹	-0,45	1,38X10 ⁻¹	0,69	1,27X10 ⁻²	1,09
P49951	CLTC	0,65	2,08X10 ⁻²	-0,66	1,85X10 ⁻²	0,69	1,28X10 ⁻²	1,23

APÊNDICE G – Valores c	le significância de proteína, filiação	ao módulo e conectividade intra	amodular com seus respectivo	s p-valores para as proteínas co-
expressas	no módulo marrom, significativame	ente correlacionado com os indi	icadores de eficiência alimenta	r (p-valor < 0,10).

conclusão.

Uniprot ID ¹	Gene	SP-CGR ²	p-valor SP-CGR	SP-CAR ³	p-valor SP-CAR	MM^4	p-valor MM	KI⁵
Q0V8K9	SLC29A1	0,16	6,30X10 ⁻¹	-0,17	6,02X10 ⁻¹	0,65	2,15X10 ⁻²	0,90
Q3T0V2	ACY1	0,14	6,74X10 ⁻¹	-0,11	7,43X10 ⁻¹	0,65	2,26X10 ⁻²	0,72
P38657	PDIA3	0,59	4,32X10 ⁻²	-0,54	7,01X10 ⁻²	0,64	2,46X10 ⁻²	1,04
Q3B7M5	LASP1	0,63	2,96X10 ⁻²	-0,59	4,25X10 ⁻²	0,64	2,61X10 ⁻²	0,69
P00727-3	LAP3	0,30	3,50X10 ⁻¹	-0,26	4,14X10 ⁻¹	0,62	3,03X10 ⁻²	0,71
A6QPL2	FNDC4	-0,04	8,96X10 ⁻¹	0,03	9,17X10 ⁻¹	0,62	3,31X10 ⁻²	1,06
A7MBE6	ACSM2A	0,14	6,68X10 ⁻¹	-0,09	7,69X10 ⁻¹	0,60	3,85X10 ⁻²	0,86

¹Uniprot ID: código de identificação da proteína no banco de dados do UniprotKB; ²SP-CGR: significância da proteína para consumo e ganho residual; ³SP-CAR: significância da proteína para consumo alimentar residual; ⁴MM; valor de filiação ao módulo; ⁵KI: conectividade intramodular. As proteínas destacadas em negrito foram diferencialmente abundantes entre amostras de fígado de bovinos Nelore classificados quanto à eficiência alimentar.