

LETÍCIA AUGUSTA DE OLIVEIRA STELLA

AVALIAÇÃO DO PERFIL PROTEICO DA CARNE ENTRE BOVINOS
CASTRADOS E NÃO CASTRADOS DA RAÇA NELORE POR MEIO DE
PROTEÔMICA QUANTITATIVA “*LABEL-FREE*”

Pirassununga

2021

LETÍCIA AUGUSTA DE OLIVEIRA STELLA

Avaliação do perfil proteico da carne entre bovinos castrados e não castrados da raça Nelore por meio de proteômica quantitativa “*label-free*”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Júlio César de Carvalho Balieiro

Coorientadora:

Dra. Mirele Daiana Poleti

Pirassununga

2021

Ficha catalográfica (obrigatório)

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 4109
FMVZ

Stella, Leticia Augusta de Oliveira

Avaliação do perfil proteico da carne entre bovinos castrados e não castrados da raça Nelore por meio de proteômica quantitativa "label-free" / Leticia Augusta de Oliveira Stella. – 2021.

60 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2021.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Júlio César de Carvalho Balieiro.

Coorientadora: Dra. Mirele Daiana Poletti.

1. Qualidade da carne. 2. Condição sexual. 3. *Bos indicus*. 4. Biomarcadores proteicos. I. Título.

Certificado da Comissão de Ética



Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

São Paulo, 18th August 2021

CERTIFIED

We certify that the Research "Evaluation of meat protein profile among steers and bulls Nelore cattle by label-free quantitative proteomics", protocol number CEUAX 7106090120 (ID 001531), under the responsibility Júlio Cesar De Carvalho Balieiro, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Ethic Committee in the Use of Animals of School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo), and was approved in the meeting of day August 10, 2020.

Certificamos que o protocolo do Projeto de Pesquisa intitulado "Avaliação do perfil proteico da carne entre bovinos castrados e não castrados da raça Nelore por meio de proteômica quantitativa [label-free]", protocolado sob o CEUAX nº 7106090120, sob a responsabilidade de Júlio Cesar De Carvalho Balieiro, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, e foi aprovado na reunião de 10 de agosto de 2020.

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Camilla Mota Mendes
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: STELLA, Letícia Augusta de Oliveira

Título: Avaliação do perfil proteico da carne entre bovinos castrados e não castrados da raça Nelore por meio de proteômica quantitativa “*label-free*”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico o presente trabalho à minha mãe Rosária, meu pai Márcio, minha tia e madrinha Isabel, minha avó Irene e meu avô Amadeu (in memoriam) que mesmo não estando mais presente, sei que de lá de cima está olhando por mim e muito orgulhoso de mais essa conquista. Foram muitos desafios ao longo do caminho, e graças a vocês eu consegui chegar à reta final. Vocês me apoiaram, ajudaram, incentivaram, não me deixaram desistir nem desanimar, mesmo nos momentos mais difíceis que só nós sabemos que passamos, vocês foram e sempre serão meu alicerce, minha alegria e a grande benção da minha vida!

Dedico também ao meu marido e grande amor da minha vida Victor, por estar comigo desde o início, por estar ao meu lado, por todo apoio incondicional, por me motivar, por me fazer rir quando as dificuldades apareciam e principalmente por me lembrar dos motivos pelos quais eu cheguei até aqui, por estar de mãos dadas comigo nesse caminho e por toda felicidade que me proporciona ao longo desses anos que estamos juntos!

Dedico à minha sogra Marta, meu sogro Claudinei e meus cunhados Gabriel e Fabrício por me apoiarem e estarem ao meu lado por todos esses anos!

Dedico às minhas amigas Mariana Roveri, Mariana Guarnieri, Daniela Barrueco por estarem ao meu lado ao longo desses anos de amizade sincera, por me incentivarem, me ajudarem e compartilharem esse momento tão especial.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a Deus pois sem Ele nada disso seria possível, por me dar saúde todos esses anos, sabedoria, conhecimento, paciência, por me proporcionar tudo o que tenho, e não me deixar fraquejar mediante as dificuldades. Também gostaria de agradecer aos meus guias e mentores espirituais, por me acompanharem em todos os momentos, principalmente nos maiores obstáculos que enfrentei, por sempre que protegerem e estarem ao meu lado.

Gostaria de agradecer aos meus pais Rosária e Márcio, minha tia Isabel, minha avó Irene e meu avô Amadeu (*in memoriam*) por tudo o que me proporcionaram, por me apoiarem, me ajudarem, acreditarem no meu potencial e estarem ao meu lado em todos os momentos.

Agradeço ao grande amor da minha vida, meu marido Victor por sempre me apoiar, me incentivar, me amar, estar ao meu lado em todos os momentos, por acreditar nesse meu sonho em ser mestre e estar ao meu lado desde o início, e principalmente por ser meu maior motivo de inspiração e motivação.

Agradeço aos meus filhos de quatro patas que eu tanto amo e por toda alegria que me proporcionaram ao longo de toda minha vida, mesmo os que já não estão mais aqui, cada um foi fundamental e me trouxe uma felicidade ímpar.

Agradeço minha sogra Marta, meu sogro Claudinei e meus cunhados Gabriel e Fabrício por me apoiarem e estarem ao meu lado ao longo desses anos.

Agradeço minhas amigas de longa data Mariana Roveri, Mariana Guarnieri, Daniela Barrueco e também às amigas que o mestrado me proporcionou, Tamyres e Pollyana, que por muitas vezes me apoiaram e ajudaram.

Agradeço imensamente meu orientador Dr. Júlio Cesar de Carvalho Balieiro e minha coorientadora Dra. Mirele Daiana Poleti por me ajudarem ter chegado até aqui, pelo apoio, incentivo, pela oportunidade, dedicação ao meu projeto, pela amizade e por me transformarem em uma Mestre.

Agradeço à Universidade de São Paulo, pela infraestrutura incrível que pode me proporcionar a realização deste projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”

Charles Chaplin

RESUMO

STELLA, L. A. O. **Avaliação do perfil proteico da carne entre bovinos castrados e não castrados da raça Nelore por meio de proteômica quantitativa “*label-free*”**. 2021. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

Os estudos proteômicos têm alcançado destaque na área de produção animal, visando um melhor entendimento dos mecanismos biológicos que levam a um produto final de qualidade. Diversos fatores influenciam na qualidade final da carne bovina, entre eles, destaca-se a condição sexual. Animais não castrados apresentam carcaça mais magra, carne mais escura, menos macia e de pior palatabilidade em relação aos animais castrados. O presente estudo teve como objetivos: (i) caracterizar o perfil proteico da carne de bovinos Nelore castrados e não castrados; (ii) comparar o perfil proteico da carne entre animais castrados e não castrados, identificando as proteínas diferencialmente abundantes; (iii) realizar associação entre as proteínas diferencialmente abundantes e as características físico-químicas, metabólicas, bioquímicas e maciez objetiva da carne; e por fim, (iv) identificar possíveis mecanismos moleculares envolvidos nas diferenças entre animais castrado e não castrado. As análises das características de qualidade e metabólitos da carne foram realizadas em uma população de 242 bovinos da raça Nelore, sendo 122 castrados e 120 não castrados. O perfil proteico da carne foi avaliado, por meio de proteômica quantitativa livre de gel e livre de marcadores (“*label-free*”), em amostras coletadas 24 horas após o abate de 6 animais castrados e 6 animais não castrados. Foram identificadas 605 proteínas no total, sendo 330 foram comuns para animais castrados e não castrados, 139 foram encontradas apenas em animais castrados e 136 apenas em animais não castrados. Foram identificadas 21 proteínas diferencialmente abundantes (DAP) entre as condições sexuais. Cinco proteínas foram encontradas apenas nos animais castrados e presentes em, pelo menos, cinco das seis amostras biológicas. Duas proteínas foram encontradas apenas nos animais não castrados e presentes em, pelo menos, cinco das seis amostras biológicas.

Palavras-chave: qualidade da carne, condição sexual, *Bos indicus*, biomarcadores proteicos

ABSTRACT

STELLA, L. A. O. **Evaluation of the meat protein profile among Nellore castrated and non-castrated bovines using label-free quantitative proteomics.** 2021. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.

Proteomic studies have achieved prominence in the area of animal production, aiming at a better understanding of the biological mechanisms that lead to a quality end product. Several factors influence the final quality of beef, among them, the sexual condition stands out. Non-castrated animals have thinner carcass, darker, less tender meat and worse palatability than castrated animals. The present study aims to: (i) characterize the protein profile of Meat from steers and intact Nellore male cattle; (ii) compare the meat protein profile from steers and intact Nellore male cattle to identify differentially abundant proteins; (iii) make an association between differentially abundant proteins and meat quality and metabolite traits; and finally (iv) identify possible molecular pathways involved with the sexual condition. The meat quality and metabolites traits analysis were performed in a population of 241 Nellore cattle, being 122 castrated and 120 non-castrated. The muscle protein profile was evaluated from samples collected 24 hours after slaughter of 6 steers and 6 intact animals by “*label-free*” quantitative gel free proteomics. A total of 605 proteins were identified, of which 330 were common for both steers and intact animals, 139 were found only in steers and 136 only in intact animals. We identified 21 differentially abundant proteins (DAP) between sexual conditions. Five proteins were considered exclusive for steers animals and present, at least, for five of six biological samples. Two other proteins were considered exclusive in intact animals and present, at least, for five of the six biological samples.

Key words: meat quality, sexual condition, *Bos indicus*, protein biomarkers

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama de Venn com as proteínas identificadas para cada condição sexual, bem como, proteínas em comum às condições sexuais avaliadas na carne de bovinos Nelore 32

Figura 2 - Análise de interação proteína-proteína das proteínas diferencialmente abundantes encontradas entre animais castrados e não castrados da raça Nelore..... 36

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Principais diferenças encontradas entre bovinos castrados e não castrados com base na literatura disponível..... 19
- Tabela 2 - Principais proteínas identificadas em estudos proteômicos aplicados à Ciência da Carne e sua respectiva associação com as características de qualidade da carne..... 22
- Tabela 3 - Números de observações (N), estimativas de médias (Média), desvio Padrão (DP), coeficientes de variação (CV), mínimo e máximo para as características físico-químicas, metabólicas, hormonais e de maciez de carne observadas nos diferentes tempos de maturação em bovinos castrados e não castrados da raça Nelore..... 33
- Tabela 4 - Estimativas de médias e erros-padrão (EP) para as características físico-químicas, metabólicas, hormonais e de maciez de carne observadas nos diferentes tempos de maturação em bovinos castrados e não castrados da raça Nelore..... 34
- Tabela 5 - Proteínas diferencialmente abundantes detectados entre bovinos castrados e não castrados da raça Nelore, considerado o nível significância de 5% e ao nível de significância marginal de 10%..... 35
- Tabela 6 – Estimativas de correlações Momento-Produto de Pearson entre as proteínas diferentemente abundantes (DAP) significativas ao nível 5% de probabilidade e as características físico-químicas, metabólicas, bioquímicas e maciez objetiva da carne, de animais castrados e não castrados avaliados simultaneamente.....37
- Tabela 7 - Estimativas de correlações Momento-Produto de Pearson entre as proteínas diferentemente abundantes (DAP) significativas ao nível 5% de probabilidade e as características físico-químicas, metabólicas, bioquímicas e maciez objetiva da carne, avaliadas somente em animais castrados.....39

Tabela 8 - Estimativas de correlações Momento-Produto de Pearson entre as proteínas diferentemente abundantes (DAP) significativas ao nível 5% de probabilidade e as características físico-químicas, metabólicas, bioquímicas e maciez objetiva da carne, avaliadas somente em animais não-castrados.....40

Tabela 9 - Proteínas presentes somente no grupo de animais castrados e presentes em pelo menos cinco, das seis amostras biológicas avaliadas..... 42

Tabela 10 - Estimativas de correlações Momento-Produto de Pearson entre as proteínas identificadas somente em animais castrados e as características físico-químicas, metabólicas, bioquímicas e maciez objetiva da carne.....43

Tabela 11 - Proteínas presentes somente no grupo de animais não castrados e presentes em pelo menos cinco, das seis amostras biológicas avaliadas..... 44

Tabela 12 - Estimativas de correlações Momento-Produto de Pearson entre as proteínas identificadas somente em animais não-castrados e as características físico-químicas, metabólicas, bioquímicas e maciez objetiva da carne.....44

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2.	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1.	Fatores que influenciam a qualidade da carne bovina.....	16
2.2.	Efeitos da castração na qualidade da carne bovina	17
2.3.	Importância do estudo da proteômica para qualidade da carne.....	19
2.4.	Abordagens em proteômica utilizadas na ciência da carne	22
2.4.1	Método a base de gel.....	23
2.4.2.	Método livre de gel (<i>Shotgun</i>)	24
2.4.3	Método livre de marcação (<i>Label-free</i>)	25
3	MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1.	Local.....	26
3.2.	Animais	26
3.3.	Coleta das amostras.....	26
3.4.	Características relacionadas à qualidade de carne avaliadas	27
3.4.1.	Mensuração do pH.....	27
3.4.2.	Mensuração dos valores de Cor.....	27
3.4.3.	Determinação de glicogênio e lactato muscular	27
3.4.4.	Perdas por cocção e força de cisalhamento	28
3.5.	Análises proteômicas	28
3.5.1.	Extração das proteínas da carne	28
3.5.2.	Preparação das amostras para espectrometria de massas	29
3.5.3.	Análise de espectrometria de massas (MS^E).....	29
3.5.4.	Parâmetros de processamento e pesquisa em banco de dados.....	30
3.6.	Análise de ontologia	31
3.7.	Análise estatística	31
4	RESULTADOS	32
5	DISCUSSÃO	45
6	CONCLUSÕES.....	49
	REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui rebanho bovino expressivo, apresentando aproximadamente 214,7 milhões de cabeças. Como reflexo deste montante, o Brasil tem papel de destaque no cenário mundial, apresentando-se na primeira colocação em termos de rebanho comercial a nível global (IBGE, 2019). Segundo os dados estatísticos de 2018, foram abatidas 44,23 milhões de cabeças de bovinos, resultando em 10,96 milhões de toneladas de carcaças, com peso médio de 244,77 kg/carcaça (ABIEC, 2019).

A raça Nelore compõe 80% do rebanho bovino brasileiro, sendo conhecida por apresentar baixo teor de gordura intramuscular e carne com maior força de cisalhamento, o que confere menor maciez (FONSECA et al., 2020). Desta forma, a castração vem sendo empregada nos últimos anos como alternativa na produção de carnes de qualidade superior, apresentando maior maciez, além de diminuir a reatividade do animal (MAZON et al., 2019). Estudos têm demonstrado que animais castrados apresentam maior deposição de gordura intramuscular (marmoreio), maior maciez, e menor taxa de cortes escuros quando comparados aos animais não castrados (RESTLE et al., 2000; SILVA et al. 2019b). Por outro lado, os animais não castrados apresentam maior eficiência alimentar e carcaças mais pesadas (MARTI et al., 2011; MOREIRA et al., 2017; MUELLER et al., 2019). Apesar das melhorias de qualidade da carne de bovinos castrados em relação aos inteiros (não-castrados) citadas acima, evidências moleculares e principais vias bioquímicas envolvidas na diferenciação entre animais de diferentes condições sexuais permanecem ainda desconhecidas (MICOL, M. et al., 2009; SILVA et al., 2019a).

Os níveis de testosterona são encontrados mais elevados nos animais não castrados e tem influência direta na qualidade do produto final, estando relacionada positivamente ao maior ganho de massa muscular e conseqüentemente maior ganho de peso do animal, porém também é relacionada negativamente a comportamentos agressivos (SALES et al., 2021).

Desta forma, a hipótese do presente trabalho é demonstrar que os animais castrados apresentam proteínas glicolíticas em maior abundância quando comparados aos animais não castrados, observando-se diferenças significativas no perfil proteico, através da descoberta de novas rotas metabólicas.

Neste sentido, estudos proteômicos têm sido propostos visando ampliar o entendimento dos mecanismos biológicos que ocorrem no processo de conversão do músculo em carne (BOUDON et al., 2020). Avaliações do perfil proteico têm sido de fundamental importância na identificação de proteínas diferencialmente abundantes, bem como, na identificação de vias bioquímicas envolvidas com características relacionadas à qualidade de carne (GAGAOUA et al., 2019).

Dentre as abordagens proteômica, duas têm sido utilizadas, sendo uma a base de géis e, outra, livre de gel (*Shotgun*) (WU et al., 2020). Quando comparadas entre si, a abordagem livre de gel apresenta vantagens, pois engloba uma maior cobertura do proteoma, menor manipulação da amostra e uma quantificação independente de ligação de corante ou marcação (ROMERO-RODRÍGUEZ et al., 2019). Dentre as técnicas de quantificação das proteínas, o método “*label-free*”, tem por base a espectrometria de massa, permitindo a identificação e quantificação de proteínas de baixa abundância de maneira abrangente e com alta confiança (TANG et al., 2019). Outra vantagem desta técnica é a substituição de etapas de rotulagem de isótopos estáveis por informática avançada, permite realizar comparações entre amostras de qualquer origem biológica (MORA et al. 2018). O método é considerado mais simples, pois é possível de ser realizado com pouca quantidade de amostra, ser menos demorado e mais econômico (POLETI et al., 2018a).

Pelo exposto, o presente estudo teve por objetivo geral avaliar o perfil proteico de bovinos da raça Nelore castrados e inteiros (não-castrados) meio de proteômica quantitativa “*label-free*”. Os objetivos específicos deste trabalho foram: (i) caracterizar o perfil proteico da carne de bovinos Nelore castrados e não castrados; (ii) comparar o perfil proteico da carne entre animais castrados e não castrados, identificando as proteínas diferencialmente abundantes (DAP, do inglês *differentially abundant proteins*); (iii) verificar a associação entre as DAPs e as características físico-químicas, metabólicas, bioquímicas e maciez objetiva da carne; e por fim, (iv) identificar possíveis mecanismos moleculares envolvidos nas diferenças entre animais castrado e não castrado.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Fatores que influenciam a qualidade da carne bovina

Frente à importância do Brasil no comércio mundial de carne bovina, algumas características sensoriais são cruciais para levar o consumidor à decisão da compra (BONIN et al., 2014). A qualidade da carne bovina é uma característica multifatorial que engloba propriedades morfofisiológicas, biológicas e bioquímicas, incluindo a composição muscular, pH, cor, maciez, capacidade de retenção de água e até mesmo o corte da carne (CHENG et al., 2020).

Segundo um estudo de PARRA-BRACAMONTE et al. (2020) a cor da carne é uma das principais características que influencia o consumidor no ato da compra, correlacionando o frescor a um tom mais avermelhado, e um tom mais acastanhado como indicador de deterioração.

O encurtamento pelo frio é outro fator que influencia na qualidade da carne. Durante o período de pré-rigor, antes de se formarem as ligações de actina com miosina, o encurtamento do sarcômero pode ocorrer, acarretando em maior força de cisalhamento, conseqüentemente obtendo-se uma carne menos macia (PURSLOW; GAGAOUA; WARNER, 2021).

O pH da carne tem forte influência sobre características de qualidade da carne e entre elas, a maciez. Além disso, o processo de degradação miofibrilar durante o armazenamento *post mortem*, juntamente com o declínio do pH de forma correta, apresenta correlação favorável com a maciez. Por outro lado, alterações no padrão de declínio do pH tem sido associadas à taxas de degradação mais lentas, resultando em carnes menos macias (WU et al., 2014).

De acordo com BONIN et al. (2021) a maciez da carne é uma característica intrínseca que influencia na qualidade da mesma. A alta variabilidade da maciez nos diferentes músculos de um mesmo animal, leva a inexistência de correlações entre os valores de força de cisalhamento quando avaliados diferentes músculos.

BELINE et al., (2020) relacionaram à qualidade da carne é a proporção dos tipos de fibras musculares presentes nos animais. Estes autores verificaram que animais com uma maior proporção de fibras glicolíticas rápidas, portanto, com maior atividade das enzimas glicolíticas, apresentaram maior taxa e extensão do declínio do pH no período *post mortem*, afetando a qualidade do produto final.

Por outro lado, um estudo de BOGDANOWICZ et al., (2022) encontrou diferenças significativas nas taxas de glicogênio entre animais castrados e não castrados apenas às seis, 24 e 48 horas *post mortem*, com uma quebra do glicogênio maior nos animais não castrados.

Além disso, um estudo de MONTEIRO et al., (2006) sugeriu que a testosterona tenha um efeito inibitório sobre as atividades enzimáticas lipogênicas no tecido adiposo, induzindo taxas lipolíticas basais mais elevada nos animais não castrados.

O manejo pré-abate tem recebido atenção especial atualmente por parte tanto de criadores, como da indústria. Hoje há uma unanimidade com relação à evitar-se fatores estressantes ao máximo possível desde a saída do animal da fazenda, até o momento do abate propriamente dito. Uma das fundamentações para ações que visam mitigar o nível estresse, é a relação já caracterizada entre alterações no declínio do pH e consequências diretas em tributos qualitativos da carne como, por exemplo, alterações na coloração, reduções na maciez e suculência da carne (REICHE et al.,2019).

A oxidação de proteínas e lipídeos ao longo do processo de armazenamento da carne, também acarreta em modificações nas propriedades físicas e químicas. Alterações na capacidade de retenção de água, maciez, valor nutricional e redução de notas em painéis sensoriais foram apontadas por MOCZKOWSKA et al., (2017). Neste sentido, pesquisas têm sido realizadas com alterações nos ingredientes da dieta animal visando melhorias na qualidade do produto final. Um exemplo é a introdução de óleos essenciais na alimentação animal, apontados como promotores de retardo processo de oxidação dos lipídeos. Os avanços nestas linhas de pesquisa podem abrir espaços para melhorias relacionadas ao processo de conservação dos produtos, preservando por maior tempo a cor, maciez e o sabor dos produtos cárneos (TORRECILHAS et al., 2020).

2.2. Efeitos da castração na qualidade da carne bovina

A castração tem sido recomendada visando diminuir a reatividade do animal e, simultaneamente, agregando características desejáveis relacionadas à qualidade da carne. SILVA et al., (2014) reportam que animais castrados apresentarem maior metabolismo energético muscular, gerando maior acúmulo de lactato, o que acarreta em pH menor e conseqüentemente, a carne agrega qualidades superiores, quando comparados à animais inteiros. Atualmente, alternativa à castração cirúrgica, a imunocastração tem sido recomendada principalmente sob os aspectos relacionados ao bem-estar animal. MARTI et al. (2017) destacaram que, como a imunocastração tem por

base a imunização ativa contra o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), aumentos na taxa de deposição de gordura e a qualidade de carne são esperados, bem como, prevenção dos comportamentos sexuais e relacionados à agressividade que, normalmente são observados em animais inteiros, não foram observados em animais imunocastrados.

Um estudo de SALES et al. (2021) avaliando animais castrados, não castrados e imunocastrados obteve como resultados um maior ganho de peso total dos animais não castrados e dos imunocastrados quando comparados aos castrados cirurgicamente; além das diferenças estatísticas no nível de testosterona, sendo maior respectivamente nos animais não castrados, nos imunocastrados e nos castrados cirurgicamente.

Um estudo de AMATAYAKUL-CHANTLER et al. (2013) também avaliou os benefícios da imunocastração quando comparada à castração cirúrgica convencional e concluiu que a imunocastração tem o mesmo efeito supressor da testosterona e também houve melhora significativa no peso vivo final, além de manter as características de qualidade da carne.

SILVA et al. (2019b) avaliaram os efeitos da castração em bovinos Nelore em diferentes fases de terminação. Os autores reportaram carcaças mais magras e pesadas em machos não castrados, menor deposição de gordura subcutânea e intramuscular, além de maior abundância da desmina intacta ao longo do período de maturação, sugerindo maior proteólise em carne de castrados. A desmina tem por função a união dos filamentos finos de actina ao disco Z, mantendo a integridade do sarcômero e consequentemente da célula muscular.

CHRIKI et al. (2012) observaram diferenças no perfil muscular entre animais castrados e não castrados e os resultados apontaram que, animais não castrados apresentam maior atividade oxidativa, quando comparados à animais castrados. Também reportaram diminuição da atividade glicolítica, aumentando a proporção de fibra Tipo I nos músculos de animais não castrados.

Em outro estudo de BONY et al. (2016) reportaram que os animais não castrados têm um crescimento mais acelerado, com maior eficiência alimentar, além de apresentarem maior rendimento de carcaça com menos gordura quando comparados aos animais castrados. Possivelmente, essas sejam os motivos para, no Brasil, ainda predominar o abate de animais não castrados.

A Tabela 1 apresenta a uma breve compilação da literatura com as principais diferenças detectadas em avaliações comparativas entre bovinos castrados e inteiros.

Tabela 1. Principais diferenças encontradas entre bovinos castrados e não castrados com base na literatura disponível.

Raça bovina	Número de animais avaliados	Principais achados	Referência
Charolês	111	Proteína HSP27 maior em animais não castrados	GUILLEMIN et al (2011)
Holandês-Friesian	160	Maior perda por cozimento nos touros, devido ao menor teor de gordura	PURCHAS, R. W. (1990)
Gado coreano	20	A castração suprarregulou a expressão dos genes adipogênicos	PARK et al (2018)
Holandês-Friesian	90	Os animais não castrados apresentaram carcaça mais pesada do que os animais castrados	MURPHY et al (2018)
Hereford-Angus	117	Animais castrados apresentaram menor força de cisalhamento do que os animais não castrados	PEACHEY et al (2002)
Holandês-Friesian	96	Animais castrados apresentaram valor de L* no tecido adiposo menor do que animais não castrados	DUNE et al (2004)
Holandês	47	Animais não castrados apresentaram maior peso final ao abate e melhor conformação de carcaça do que animais castrados	MARTI et al (2011)
Bovinos Koreanos	24	Animais não castrados apresentaram maior concentração de hidrocortisona e cortisona do que os animais castrados	CHOI et al (2010)
Nelore-Angus	27	Animais não castrados apresentaram maior ganho de peso diário e tenderam a acumular mais proteína e menos gordura do que os animais castrados	CHIZZOTTI et al (2009)
Nelore-Angus	14	Animais não castrados apresentaram menor teor de gordura, maior teor de proteína e maior capacidade de crescimento muscular	PADRE et al (2006)

2.3. Importância do estudo da proteômica para qualidade da carne

A proteômica tem por objetivo a obtenção de informações sobre a abundância de um grande número de proteínas em uma amostra, de forma simultânea, revelando os produtos da expressão genes que foram transcritos e atingiram o estágio tradução. Neste sentido, permitindo, MULLEN et al., (2006) apontaram que, sob certas circunstâncias, a proteômica pode elucidar a interação entre genótipo e o ambiente a nível celular.

Nos últimos anos, os estudos nas mais diversas áreas das ciências “ômicas” têm trazido importantes contribuições para entendimento do componente genético sobre características físico-químicas e relacionadas à maciez da carne. Neste contexto, PICARD et al., (2015) destacaram a utilização de estudos proteômicos, como ferramenta

para avaliação das interações entre as proteínas, bem como, sua influência na composição final da carne, tornam-se relevantes para a busca de maiores moleculares que têm relação com produtos finais de qualidade e excelência superiores.

Para se obter um produto final de qualidade, o processo de conversão do músculo em carne precisa ser minuciosamente estudado, devido às características multifatoriais, envolvidas em mudanças fisiológicas, bioquímicas e metabólicas (HUANG et al., 2020).

Uma das principais características sensoriais relacionadas à uma carne de qualidade é a maciez a qual, quando associada à condição da musculatura esquelética do animal, pode sofrer mudanças durante os processos envolvidos no *post mortem* e resultando em modificações do perfil proteico (LÓPEZ-PEDRUOSO et al., 2019).

De acordo com SCHILLING et al. (2017), estudos em proteômica são relativamente recentes e têm sido utilizados a fim de se obterem as informações contidas no material genético que foi expresso e, posteriormente, traduzido em proteínas. Neste sentido, a ferramenta pode permitir a detecção de potenciais indicadoras associadas a carne de qualidade superior ou inferior.

A proteômica é uma ferramenta pós-genômica e, diferentemente das outras ciências ômicas, possibilita identificar as vias e interações moleculares relacionadas a cada proteína identificada, sendo reconhecida como uma estratégia prospectiva, permitindo a análise dos níveis de abundância diferencial das proteínas da carne (JIA et al., 2021). Desta forma, verifica-se que os estudos em proteômica têm contribuído para o entendimento de pontos relevantes relacionados à maciez da carne, pH, deposição de gordura intramuscular, entre outros (GAGAOUA et al., 2019).

Segundo MUNEKATA et al. (2021), a proteômica é capaz de elucidar as interações que ocorrem entre as proteínas e suas correlações com os processos biológicos aos quais estão envolvidas. Aliadas às ferramentas de bioinformática disponíveis, é possível a criação de redes de expressão e co-expressão de proteínas, bem como, associar possíveis impactos no produto final.

SILVA (2012) encontraram diferenças no perfil proteico de animais Nelore castrados entre os diferentes tempos de maturação (24 horas, sete e 14 dias *post mortem*), particularmente, em proteínas relacionadas às reações enzimáticas da glicólise e também associadas às *heat-shock proteins* (HSP).

Nosso grupo de pesquisa vem trabalhando com análises proteômica e pode ser considerado, um dos primeiros grupos a utilizar a abordagem proteômica de forma aplicada à Ciência da Carne no Brasil. Neste sentido, CARVALHO et al. (2014) avaliaram

o proteoma de bovinos da raça Nelore, e identificaram proteínas foram correlacionadas com menores força de cisalhamento. Entre elas, a HSP27 foi associada ao retardamento inicial do processo de proteólise e, com o decorrer do processo de maturação, essa proteína contribuiu com a maciez. Já em outro estudo do nosso grupo de pesquisa, POLETI et al. (2018a) realizaram estudos proteômicos, também na raça Nelore, avaliando variações do pH final da carne e sua influência em características de qualidade da carne. Os resultados obtidos apontaram proteínas relacionadas a processos metabólicos e de contração muscular que estão associadas a alterações nos valores de pH final. Já em outro estudo, POLETI et al. (2018b) verificaram alterações no proteoma muscular associado à deposição de gordura intramuscular. Estes autores observaram diferenças de abundâncias de peptídeos envolvendo principalmente proteínas relacionadas à glicólise, de sinalização do citoesqueleto, actinas e relacionadas ao metabolismo de insulina.

GAGAOUA et al. (2019) utilizando bovinos das raças Aberdeen Angus, Limousin e Blond d'Aquitaine, identificaram as proteínas miosina de cadeia pesada (MyHC-I, MyHC-IIa, MyHC-IIx), proteína da doença de Parkinson ((DJ-1 (PARK7)), peroxiredoxina 6 (PRDX6) e μ -calpaína (CAPN1) como possíveis marcadores para maciez da carne bovina. Entretanto, esses autores ressaltam que associação entre os marcadores de proteína e maciez depende da temperatura final de cozimento da carne, da raça e do país de origem dos provadores. Já comparações no perfil proteico entre animais castrados e não castrados da raça Nelore foram recentemente relatadas no estudo de SILVA et al. (2019a) por meio de proteômica a base de gel. Estes autores relataram que as principais proteínas diferencialmente abundantes foram relacionadas à contração muscular, via glicolítica, fosforilação oxidativa, célula de defesa, metabolismo de creatina e citoproteção.

PICARD et al. (2019) avaliaram a abundância relativa de 20 proteínas consideradas biomarcadoras para maciez e gordura intramuscular em cinco diferentes músculos de vacas e novilhos da raça francesa Maine-Anjou. Os autores observaram que as vacas comparativamente aos novilhos apresentaram uma maior abundância das *heat-shock proteins 20* (HSP20), frutose bi-fosfato aldolase (ALDOA), Malato desidrogenase (MDH1), Miosina de cadeia pesada (MyHC-IIx), e menor abundância das proteínas Fosfoglicerato quinase 1 (PGK1), Peroxiredoxina (PRDX6), Triosefosfato isomerase (TPI1), e Troponina T (TNNT1), em todos os músculos.

MAHMOOD et al. (2018) correlacionaram o perfil proteômico de vacas e novilhos a cortes escuros da carne (*dark cutting*) e identificaram maior abundância de proteínas glicolíticas no músculo *Longissimus thoracis post mortem*. Entretanto, as mudanças observadas não foram relacionadas à condição sexual dos animais e sugeriram que a cor escura atípica possa ser resultado de um comprometimento da capacidade glicolítica.

A Tabela 2 apresenta uma breve compilação de mais alguns trabalhos científicos com as principais proteínas identificadas em estudos proteômicos aplicados à Ciência da Carne e sua respectiva associação com as características de qualidade da carne.

Tabela 2. Principais proteínas identificadas em estudos proteômicos aplicados à Ciência da Carne e sua respectiva associação com as características de qualidade da carne.

Nome do Gene	Nome da Proteína	Relação com as características de qualidade da carne	Referência
MYF5	Fator miogênico 5	Espessura de gordura subcutânea e maciez da carne	ZHAO et al (2020)
B2M	Beta-2-microglobulina	Maciez, suculência e mastigabilidade	ZHU et al (2021a)
GPX1	Glutathiona peroxidase 1	Correlacionada negativamente com a cor a* e positivamente correlacionada ao pH	YU et al (2017)
TPI1	Triosefosfato isomerase	Negativamente correlacionada com as cores L* e a* e com a força de cisalhamento	HUANG et al (2020)
TTN	Titina	Positivamente correlacionada com o pH e as cores a* e b*	GAGAOUA et al (2018)
HSP27	Proteína de choque térmico 27	Maciez, suculência e sabor	PULFORD et al (2009)
MYH1	Miosina de cadeia pesada 1	Correlacionada negativamente a cortes escuros	KIYIMBA et al (2021)
FHL1	Quatro domínios e meio LIM 1	Positivamente correlacionada a cor da carne	ZHU et al (2021b)
RPTN	Repetina	Relacionado positivamente ao marmoreio da carne	OSWALT et al (2021)
PPARGC1A	Coativador PPARG 1 alfa	Altamente expresso no grupo com alto teor de marmoreio	CHEN et al (2019)

2.4. Abordagens em proteômica utilizadas na ciência da carne

A maioria das ferramentas proteômicas são baseadas na separação de proteínas em pelo menos duas dimensões, usando métodos cromatográficos ou de eletroforese, geralmente seguido pela espectrometria de massa (MULLEN et al., 2006).

Os estudos em proteômica, segundo GOBERT et al. (2014), tem por base a caracterização e quantificação de proteínas por diferentes estratégias seguidas ou não pela identificação por meio de espectrometria de massas, complementadas por análises de bioinformática. Há tipos de abordagens distintas as quais podem ser a base de gel ou livre de gel (*Shotgun*), com marcação envolvendo corantes ou sem marcação (“*label-free*”). Apresentamos a seguir uma breve discussão sobre estes principais métodos de avaliação do perfil proteico que vêm sendo utilizados e aplicados na Ciência da Carne.

2.4.1 Método a base de gel

Os estudos em proteômica com base de gel iniciaram-se por volta de 1970 e têm sido a primeira escolha da maioria dos estudos baseados em proteômica até então. O foco a identificação de proteínas específicas entre as condições experimentais e permite uma análise de variantes pós-transcricionais modificadas (BAZILE et al., 2019).

A utilização da técnica com base de gel tem por vantagens permitir o pré-fractionamento da amostra e a remoção de compostos danosos para a análise de espectrometria de massas, como detergentes e sais (XU et al., 2011). Por outro lado, apresenta como principal desvantagem o fato de precisar de uma quantidade relativamente alta de amostra para a identificação das proteínas (MEGGER et al., 2013).

As abordagens em proteômica com base de gel podem ser subdivididas em gel unidimensional (1D) ou gel bidimensional (2D), sendo que a segunda quando comparada com a primeira, apresenta resolução superior na separação dos peptídeos (BENNETT et al., 2011).

Os estudos em proteômica por meio de gel unidimensional (1D) apesar de envolverem uma abordagem do proteoma menos complexa, ainda são utilizadas para enriquecimento de frações proteicas ou subproteoma, sendo uma técnica válida e poderosa (JORRIN-NOVO et al., 2019). Porém, a técnica não é capaz de detectar proteínas com alto peso molecular ou complexos geralmente relacionados à membrana e de natureza hidrofóbica, bem como, detectar proteínas de baixa abundância, que podem não ser detectadas dependendo da taxa de migração do gel (WILLIAMSON et al., 2012).

A utilização da técnica por meio de gel bidimensional é a mais comum das abordagens em proteômica, separando as proteínas por meio do seu ponto isolétrico e do seu peso molecular, sendo capaz de comparar a quantidade de proteínas e mostrar

as isoformas em um mesmo gel (ALHARBI, 2020). Além disso, tal técnica é capaz de detectar facilmente a degradação descontrolada de proteínas, processos químicos envolvendo modificações proteicas ou até mesmo problemas de solubilização, por meio de mudanças no padrão de distribuição dos spots ao longo do gel (ROGOWSKA-WRZESINSKA et al., 2013).

A utilização da técnica de eletroforese em gel bidimensional (2DE) aliada à análise MS/MS tem por objetivo gerar mapas do proteoma. Já a técnica de eletroforese em gel diferencial bidimensional (2D-DIGE) é uma abordagem quantitativa para detectar alterações no proteoma, oferecendo maior sensibilidade com uma menor quantidade de amostra em comparação com 2DE (KALITA et al., 2020).

Em uma análise comparativa, a utilização de gel bidimensional (2DE) tem algumas restrições com relação a quantidade de carga de proteína recomendada, sendo limitada a centenas de microgramas de proteína total, colocada em uma quantidade restrita de volume. Este fato torna a técnica limitante para visualizar e quantificar proteínas com precisão, sendo aplicada mais comumente em proteínas mais abundantes (WU et al., 2005).

2.4.2. Método livre de gel (*Shotgun*)

No método livre de gel, também conhecido por proteômica *Shotgun*, as proteínas são digeridas em peptídeos que são carregados para separação com base em cromatografia bidimensional. Os peptídeos são então eluídos por um espectrômetro de massas e então os dados são analisados (GILMORE; WASHBURN, 2010). O pré fracionamento em nível de proteína ou peptídeo é uma prática comum no método livre de gel, pois reduz a complexidade da amostra e aumenta a probabilidade de identificação de proteínas de baixa abundância (MANFREDI et al., 2017). O método apresenta como vantagem uma maior sensibilidade na análise dos peptídeos e possibilidade de sequenciamento de pelo menos um peptídeo proveniente de cada proteína parental, além de reduzir a manipulação das amostras, pois envolve a cromatografia líquida que pode ser acoplada diretamente com a espectrometria de massas (MAMONE et al., 2019; GISMONDI et al., 2015).

Quando comparada à proteômica de gel, o método livre de gel *Shotgun* é mais eficaz por permitir a identificação e quantificação de proteínas em grande escala, além de fornecer uma visão mais aprofundada do proteoma (FARINHA et al., 2021).

Apesar de todas as vantagens, a proteômica *Shotgun* pode não ser considerado o melhor método em determinadas situações e, dentre elas, pode-se destacar os casos relacionados à proteínas de baixa abundância frente a um número muito grande de proteínas com abundância relativamente alta (FERCHA et al., 2013).

2.4.3 Método livre de marcação (*Label-free*)

O método livre de marcação, também conhecido por "*label-free*" é uma tecnologia de alto rendimento utilizada para determinar proteínas diferencialmente abundantes (KESHRI et al., 2021). De maneira geral, nos estudos envolvendo o método "*label-free*", ou seja, livre de marcadores, a contagem espectral é um método adotado por ser simples e computacionalmente eficiente na quantificação de proteínas (WINKLER, 2021). A contagem espectral pode ser obtida por meio de espectros MS/MS adquiridos de proteínas específicas ou por meio da intensidade do sinal para íons precursores (XIAO et al., 2019). Além da contagem espectral, outra estratégia que pode ser adotada é a quantificação com base na avaliação da intensidade do sinal, tomando por base, os espectros de íons precursores, que são correlacionados a uma faixa dinâmica de um espectrômetro de massas (GALLEGO et al., 2015).

Nos últimos anos, os métodos proteômicos livre de marcação têm sido utilizados como alternativa promissora por apresentarem alta confiabilidade em seus resultados. Entretanto, por se tratar de uma técnica relativamente recente, ainda há escassez de estudos em algumas áreas que utilizam esta abordagem (YAN et al., 2021). Quando comparada à outras técnicas, o método "*label-free*" tem sido considerado uma ferramenta eficaz e de custo mais acessível, quando comparada a outros métodos já utilizados (FANG et al., 2020).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Local

O presente estudo foi conduzido na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), na cidade de Pirassununga, São Paulo. O estudo contou com a colaboração dos Laboratórios de Estudos Avançados em Ciência da Carne (LEACC), pertencente à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP) e o Multiusuário Centralizado de Genômica Funcional Aplicada à Agropecuária e Agroenergia, (FAPESP-EMU N. 2009/54037-7), localizado na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP).

3.2. Animais

Neste estudo foram utilizadas para as análises proteômicas amostras referentes a 12 animais (6 animais castrados e 6 animais não castrados) provenientes de uma população de 242 bovinos machos da raça Nelore castrados ($N_1=122$) e não castrados ($N_2=120$), criados a pasto até aproximadamente 21 meses de idade e terminados em confinamento. Os 122 animais foram castrados com 13 meses \pm 1 mês por método cirúrgico. A dieta foi composta por 74,8% de nutrientes digestíveis totais, 14,4% de proteína bruta, bagaço de cana (15%, base seca), milho moído (50%), soja (5,6%), glúten de milho (28%), premix mineral (1%) e ureia (0,4%). O experimento foi aprovado pelo Comitê de Cuidado e Uso de Animais da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo (Anexo A). Os animais foram abatidos com aproximadamente 24 meses e com peso vivo de 505 ± 37 kg. As carcaças foram armazenadas em câmaras frias (4 ° C) por 24 horas para posterior desossa conforme descrito por POLETI et al., (2015).

3.3. Coleta das amostras

Aproximadamente uma hora após a morte do animal, uma amostra de músculo *Longissimus thoracis* (LT) foi retirada da carcaça e congelada em nitrogênio líquido para as determinações de glicogênio e lactato. Após o abate, foram coletadas amostras do músculo LT às 24 horas *post-mortem* da metade direita de cada carcaça e congeladas rapidamente em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -80°C para posterior análise do perfil proteico, determinações de glicogênio e lactato. Adicionalmente, três bifés de 2,5 cm de espessura entre a 11ª e a 13ª vértebras torácicas do músculo LT da

carcaça esquerda foram retirados para determinar a perda de água por cozimento, força de cisalhamento e valores associados a cor instrumental. Os bifes foram embalados a vácuo (Selovac M160), com filme flexível altamente impermeável, Polyfilm® e maturado por um, sete e 14 dias a 2°C.

3.4. Características relacionadas à qualidade de carne avaliadas

3.4.1. Mensuração do pH

O pH do músculo *Longissimus thoracis* foi mensurado individualmente uma hora e 24 horas após o abate utilizando um medidor de pH digital portátil (pH 11 Economy Meter, instrumentos Oakton) equipados com uma sonda de penetração de vidro.

3.4.2. Mensuração dos valores de Cor

A cor da carne foi mensurada usando um colorímetro portátil (espectrofotômetro Minolta CM-2500d, Osaka, Japão) com uma fonte de luz D65, observador de 10° e abertura de 30mm. Os valores de L*, a* e b* foram determinados de acordo com o sistema de avaliação CIE (L*a*b*, 1976).

Foram realizadas medidas em três pontos diferentes na superfície dos bifes após 30 minutos de exposição ao ambiente em seguida da remoção da embalagem a vácuo. A média dos três pontos foi utilizado para as análises estatísticas.

3.4.3. Determinação de glicogênio e lactato muscular

Amostras de tecido muscular foram preparadas usando o método descrito por RAMOS e GOMIDE (2007). Tecidos de LT congelados (0,5g), retirados 30 minutos *post-mortem* de cada animal, foram homogeneizados em ácido perclórico 0,6 M gelado com o homogeneizador Turrtec (*TE-102, Tecnal*) para desproteínizar o tecido. Amostras foram centrifugadas a 3.000 x g por 10 min a 4°C e o sobrenadante filtrado em papel de filtro n° 54 (*Whatman*). O filtrado foi neutralizado com uma solução de hidróxido de potássio (2M KOH, 0,4M Imidazol e 0,4M KCl) até atingir pH 7,0. O lactato e o glicogênio foram determinados espectrofotometricamente com o Kit de Análise de Lactato EnzyChrom™ (*BioAssay Systems, Hayward, USA*) e Análise de Glicogênio EnzyChrom™ (*BioAssay Systems, Hayward, USA*) de acordo com as instruções do fabricante. A intensidade colorimétrica de cada poço foi determinada usando um leitor de microplaca a 570 nm.

3.4.4. Perdas por cocção e força de cisalhamento

Os bifes foram escolhidos aleatoriamente em cada período pré-determinado de maturação (um, sete ou 14 dias *post-mortem*), retirados da câmara fria e imediatamente utilizados. A determinação da maciez foi realizada conforme preconizado pela *American Meat Science Association* (AMSA, 1995). As embalagens a vácuo foram abertas, os bifes pesados e em seguida, assados em forno elétrico pré-aquecido com um termostato ajustado para 170°C. A temperatura interna de cada bife foi monitorada com termopares (*Data Logger digital 700-10s, Gulterm*) inseridos no centro geométrico do bife e, registradas usando um registrador de temperatura digital. Ao atingir a temperatura interna de 42°C os bifes foram virados e cozidos até a temperatura interna final de 71°C. Após o cozimento, os bifes LT foram mantidos à temperatura ambiente até atingir a temperatura interna de 28°C para serem pesados, embalados em filme plástico e armazenados a 4°C por 24 horas. No dia seguinte, seis cilindros de 1,27 cm de diâmetro foram removidos paralelamente à orientação longitudinal das fibras musculares. No mínimo quatro e máximo de seis cilindros foram obtidos de cada bife. Cada cilindro foi cisalhado uma vez no centro usando o aparelho *Warner-Bratzler Shear Force* (WBSF), com sonda *Warner Bratzler* deslocando-se em velocidade de 500 mm/min. A força de cisalhamento de cada amostra foi determinada pela média dos valores dos cilindros.

A perda por cozimento foi determinada pela diferença entre os pesos antes e após o cozimento e os valores foram expressos em porcentagem (%).

3.5. Análises proteômicas

3.5.1. Extração das proteínas da carne

Amostras congeladas do músculo LT (0,5g) foram homogeneizadas em 2mL do tampão de lise gelado contendo 8M de ureia, 2M de tiourea, 1% de DTT, 2% de CHAPS e 1% de inibidor de protease com auxílio do homogeneizador *Turrtec (TE-102, Tecna)*. Os extratos brutos foram vigorosamente agitados por 30 minutos a 4°C, seguido de centrifugação a 10.000 x g por 30 minutos a 4 °C (BOULEY et al., 2005). O sobrenadante foi recolhido e a quantificação de proteínas foi determinada pelo *PlusOne 2-D Quant Kit (GE Healthcare)*.

3.5.2. Preparação das amostras para espectrometria de massas

Os extratos de proteína foram desaminizados usando filtro Amicon Ultra-0.5mL 3 K-NMWL (Millipore, Irlanda). As amostras foram lavadas quatro vezes com aproximadamente 400µL de solução contendo 50mM de NH_4CO_3 (pH 8,0) e 2M de ureia. A solução proteica retida foi recolhida e a concentração da proteína total determinada utilizando o método de *Bradford Protein Assay* (Bio Rad). Cerca de 50µL de cada amostra (1µg/µL) foram desnaturadas com 25µL de solução de surfactante RapiGest SF a 0,2% (Waters Corporation, USA) em 50mM de NH_4CO_3 (pH 8,0). As soluções foram incubadas por 15 minutos a 80°C. Posteriormente as amostras foram reduzidas com 2,5µL de Ditiotretol 100mM (*GE Healthcare*) e incubadas por 30 minutos a 60°C, seguido de incubação com 2,5µL de iodoacetamida 300mM (*GE Healthcare*) no escuro por 30 minutos à temperatura ambiente. Para digestão, será adicionada tripsina (Promega) na proporção de proteína 1:100 (w/w). A reação foi realizada *overnight* a 37°C. Após a digestão, 10µL de ácido trifluoracético a 5% foram adicionados à mistura digerida para hidrolisar o surfactante RapiGest. As soluções da mistura peptídica foram centrifugadas a 18.000 xg a 6°C por 30 minutos. Os sobrenadantes foram transferidos para um novo frasco, seguidos de dessalinização utilizando colunas *Zip Tip Reversed Phase C18, P10* (Milipore) e secados em centrífuga a vácuo. Todas as amostras foram armazenadas a -80°C. Previamente à análise de espectrometria de massas (MS^E), as amostras de peptídeos liofilizados foram ressuspensas em 20mM de solução de amônio (pH10), contendo 1pM de fosforilase de coelho (P00489 – padrão interno para normalização de dados e quantificação de proteínas “*label-free*”).

3.5.3. Análise de espectrometria de massas (MS^E)

Primeiro, os peptídeos foram separados no sistema de cromatografia líquida de ultraperformance (*2D Technology nanoACQUITY*) com tecnologia 2D de fase reversa (*Waters, Manchester, UK*). A separação na primeira dimensão foi realizada em uma coluna XBridge BEH130 C18 5 µm, 300 µm x 50 mm (*Waters, Manchester, UK*). Os peptídeos foram eluídos usando cinco gradientes binários diferentes de 20 mM de formiato de amônio (pH 10) em acetonitrila a um fluxo de 400 nL.min. Os peptídeos eluídos na primeira coluna da primeira dimensão foram diluídos em uma segunda coluna *Symmetry C18 5 µm, 180 µm x 20 mm* (*Waters, Manchester, UK*) com acetonitrila contendo 0.1% de ácido fórmico a um fluxo de 2 µL.min. A separação na segunda dimensão foi realizada em uma coluna HSS T3 1.8 µm, 75 µm x 100 mm (*Waters,*

Manchester, UK) usando um gradiente binário de 3 a 85% de acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico a um de fluxo de 350 nL.min por 52 min.

A aquisição de dados foi realizada em um espectrômetro de massas SYNAPT G2 HDMS (*Waters, Manchester, UK*), equipado com uma célula de mobilidade iônica e uma fonte de ionização *NanoLockSpray* operando no modo de íon positivo ESI e modo “V”. O íon duplamente carregado $[M+2H]^{2+}$ foi usado para calibração inicial, e os fragmentos de íons MS/MS de GFP foram usados para obter uma calibração final do instrumento.

Para análise de proteômica quantitativa os experimentos foram realizados no modo MS^E (análise independente de dados) que consiste na aquisição alternada, entre espectros obtidos à baixa (3 eV) e alta (15-50 eV) energia de colisão, aplicadas ao módulo trap da célula *T-wave*, em presença do gás argônio, que produz íons precursores e produtos. O tempo de varredura foi de 0,8 segundos a cada modo, no intervalo de m/z entre 50 e 2000.

Para identificar e quantificar as proteínas, as intensidades dos espectros foram calculadas usando método estequiométrico, de acordo com o padrão interno, durante a análise de MS^E.

3.5.4. Parâmetros de processamento e pesquisa em banco de dados

Os dados da análise de espectrometria de massas foram processados utilizando a plataforma de programas *ProteinLynx Global Server (PLGS, Waters Corporation)*, versão 2.5.1. O processamento de dados incluiu a correção de massa de bloqueio de 0,4 Da após aquisição e operação do instrumento com uma resolução de pelo menos 10.000 FWHM. As identificações das proteínas foram obtidas com o algoritmo de contabilidade de íons incorporado ao software *PLGS*, pesquisando no banco de dados *UniProtKB/Swiss-Prot Bos taurus e Bos indicus* para qual a sequência da fosforilase do coelho (P00489) foi anexada.

Os parâmetros para a pesquisa no banco de dados foram: tolerância automática para íon precursor, tolerância automática para íons produtos, mínimo de 1 íon fragmento consecutivo por peptídeos, mínimo de 5 íons fragmentos consecutivos por proteínas, mínimo de 1 peptídeo consecutivo por proteína, 1 clivagem perdida, carbamidometilação de cisteínas e oxidação de Metionina como modificações fixas e variáveis. A taxa de falso positivo (FPR) do algoritmo de identificação foi definida em 4%. A análise quantitativa relativa foi realizada pelo servidor global 2.5.1 (*Waters Corporation*,

Manchester, UK). Proteínas identificadas foram normalizadas contra o padrão fosforilase e a digestão foi usada para normalizar a tabela EMRT (de-isotopização e deconvolução multi-cargas, com tempos de retenção e massas exatas).

3.6. Análise de ontologia

A análise de enriquecimento de termos de ontologia genética (GO) usando a lista de proteínas exclusivas de cada condição sexual foi realizada com o Banco de Dados para Anotação, Visualização e Descoberta Integrada (DAVID) ferramenta v6.8 (HUANG et al., 2009) e ProteINSIDE (KASPRIC et al., 2015). As ferramentas REVIGO serão usadas para resumir em *clusters* os termos redundantes de GO (SUPEK et al., 2011). Redes de interações proteína-proteína serão construídas pelo STRING versão 10 (<http://string-db.org>) comparando com o banco de dados *Bos taurus* e considerando um score de confiança médio de 0,4 para interações (SZKLARCZYK et al., 2015).

3.7. Análise estatística

Todas as variáveis relacionadas à qualidade da carne foram analisadas considerando com um modelo linear misto que contemplou o efeito fixo de condição sexual (CS_i sendo $i=1$, castrados e 2 , não castrados), além de Reprodutor e Resíduo, como efeitos aleatórios.

Para avaliação do perfil proteico, visando minimizar a variabilidade individual, optou-se por realizar a análise de abundância diferencial das proteínas presentes em pelo menos três das seis replicatas biológicas. Foram realizadas análises com base em um modelo linear misto com o efeito fixo de condição sexual (CS_i sendo $i=1$, castrados e 2 , não castrados), além de Reprodutor e Resíduo, como efeitos aleatórios. Para avaliar a associação do perfil proteico com as características relacionadas à qualidade de carne, foram utilizadas análises de correlações e análises de regressão múltiplas por meio dos procedimentos

Em todas as análises os resíduos foram avaliados com respeito à homogeneidade e a normalidade por meio de avaliação dos resíduos condicionais *studentizados*. As análises foram realizadas com auxílio dos procedimentos MIXED, CORR e REG do programa *Statistical Analysis System*, versão 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC).

4 RESULTADOS

A Tabela 3 apresenta os números de observações (N), estimativas de médias (Média), desvio Padrão (DP), coeficientes de variação (CV), mínimo e máximo para as características físico-químicas, metabólicas, hormonais e relacionadas à qualidade da carne observadas nos diferentes tempos de maturação (um, sete e 14 dias) para os bovinos castrados e não castrados da raça Nelore avaliados neste estudo.

Na Tabela 4 pode ser verificada as estimativas de médias e erros-padrão (EP), bem como, as diferenças detectadas entre os animais castrados e não castrados para as características físico-químicas, metabólicas, hormonais e relacionadas à qualidade da carne, ao longo do período de maturação (um, sete e 14 dias) avaliadas em bovinos da raça Nelore.

Os resultados das análises proteômicas revelaram diferença no perfil proteico de animais castrados e não castrados. Foram identificadas um total de 605 proteínas. Destas proteínas, 330 foram comuns para ambos os grupos, 139 foram encontradas apenas em animais castrados e 136 foram encontradas apenas em animais não castrados (Figura 1).

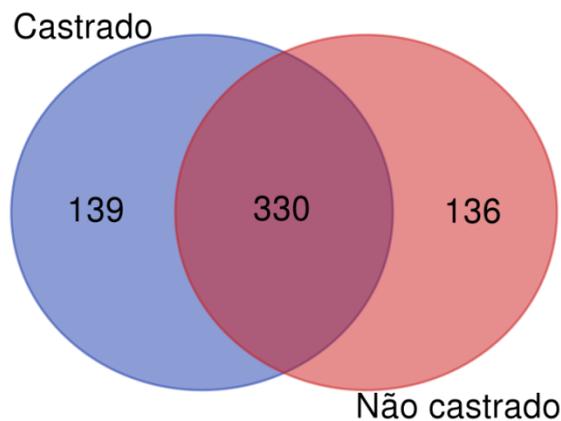


Figura 1. Diagrama de Venn com as proteínas identificadas para cada condição sexual, bem como, proteínas em comum às condições sexuais avaliadas na carne de bovinos Nelore.

Tabela 3. Números de observações (N), estimativas de médias (Média), desvio Padrão (DP), coeficientes de variação (CV), mínimo e máximo para as características físico-químicas, metabólicas, hormonais e de maciez de carne observadas nos diferentes tempos de maturação em bovinos castrados e não castrados da raça Nelore.

Variável	N	Média	DP	CV	Mínimo	Máximo
PVI (Kg)	12	359,58	30,50	8,48	300,0	402,0
PVF (Kg)	12	506,00	37,11	7,33	416,0	572,0
pH_1h	12	6,76	0,15	2,17	6,46	7,02
Temp_1h(°C)	12	38,52	1,57	4,07	36,40	40,60
pH_24h	12	5,89	0,31	5,31	5,58	6,28
Temp_24h (°C)	12	6,51	2,18	33,47	2,80	9,90
L* 1D	12	30,49	5,40	17,71	23,37	41,52
A* 1D	12	18,20	4,96	27,26	12,39	26,38
B* 1D	12	15,04	5,05	33,60	7,71	21,72
L* 7D	12	32,57	4,41	13,55	26,75	43,84
A* 7D	12	15,91	3,26	20,50	11,70	23,13
B* 7D	12	15,40	5,22	33,92	8,01	22,56
L* 14D	12	31,51	4,72	14,99	26,37	44,30
A* 14D	12	18,03	4,71	26,10	12,62	26,57
B* 14D	12	14,15	4,86	34,33	6,71	20,45
PAC1D (%)	10	23,93	2,68	11,21	20,07	30,43
PAC7D (%)	12	22,04	3,97	18,0	15,98	28,98
PAC14D (%)	12	21,89	4,54	20,74	13,42	28,84
FC1D (kgf)	12	9,12	1,47	16,12	6,28	12,47
FC7D (kgf)	12	7,50	1,95	25,99	4,36	11,43
FC14D (kgf)	12	6,48	2,32	35,75	3,50	10,74
GLICO1h (µmol/g)	12	12,68	6,74	53,15	4,17	22,59
GLICO24h (µmol/g)	9	7,38	3,39	45,89	2,16	10,93
LACT1h (µmol/g)	12	15,08	6,79	45,03	5,13	27,59
LACT24h (µmol/g)	12	38,26	11,38	29,75	21,87	60,29
CORT_IV (µg/dL)	12	4,66	1,69	36,36	2,35	7,59
CORT_PM (µg/dL)	12	6,63	2,14	32,31	3,94	9,94
ACTH_IV (pg/mL)	12	16,71	8,77	52,51	5,87	31,92
ACTH_PM (pg/mL)	12	11,25	8,19	72,82	1,70	26,29

PVI e PVF: Peso Vivo Inicial e Final em quilogramas (Kg); pH_1h e pH_24h: pH intramuscular mensurado à uma e às 24 horas *post mortem*; Temp_1h e Temp_24h: Temperatura da carcaça mensurada à uma e às 24 horas *post mortem*; L*, a* e b* 1D, 7D e 14D: mensuração da cor realizada nos bifes com um, sete e 14 dias de maturação; PAC 1D, 7D e 14D: Perda de Água por Cocção (%) realizada nos bifes com um, sete e 14 dias de maturação; FC 1D, 7D e 14D: Força de cisalhamento em quilogramas força (kgf) realizada nos bifes com um, sete e 14 dias de maturação; GLICO 1h e 24h: Glicogênio muscular mensurado em amostras coletadas à 1 hora e 24 horas *post mortem*; LACT1h e 24h: Lactato muscular mensurado em amostras coletadas à 1 e 24 horas *post mortem*; CORT_V: Cortisol in vivo (µg/dL); CORT_PM: Cortisol *post mortem* (µg/dL); ACTH_IV: Hormônio adrenocorticotrófico in vivo (pg/mL); ACTH_PM: Hormônio adrenocorticotrófico *post mortem* (pg/mL).

Tabela 4. Estimativas de médias e erros-padrão (EP) para as características físico-químicas, metabólicas, hormonais e de maciez de carne observadas nos diferentes tempos de maturação em bovinos castrados e não castrados da raça Nelore.

Variável	Castrados			Não Castrados		
	Média	EP		Média	EP	
PVI (kg)	354,94	14,19	A	367,27	14,30	A
PVF (kg)	471,10	14,95	B	532,52	15,22	A
pH_1h	6,73	0,06	A	6,80	0,07	A
Temp_1h(°C)	38,24	0,61	A	39,11	0,62	A
pH_24h	5,77	0,12	A	6,01	0,12	A
Temp_24h (°C)	5,51	0,94	A	6,66	0,96	A
L* 1D	31,80	2,61	A	29,84	2,67	A
A* 1D	18,88	2,17	A	17,61	2,22	A
B* 1D	15,03	2,07	A	15,04	2,09	A
L* 7D	33,14	1,87	A	32,0	1,87	A
A* 7D	18,13	1,17	A	14,56	1,19	B
B* 7D	15,08	1,84	A	14,85	1,86	A
L* 14D	32,72	2,32	A	31,03	2,36	A
A* 14D	19,08	1,76	A	16,12	1,79	A
B* 14D	13,73	1,69	A	12,81	1,69	A
PAC1D (%)	23,94	1,30	A	24,79	1,32	A
PAC7D (%)	23,39	1,83	A	21,91	1,87	A
PAC14D (%)	23,77	1,75	A	20,0	1,75	A
FC1D (kgf)	8,34	0,52	A	9,90	0,52	A
FC7D (kgf)	6,27	0,63	B	8,74	0,63	A
FC14D (kgf)	5,04	0,75	B	7,98	0,75	A
GLICO1h (µmol/g)	14,54	2,83	A	11,65	2,88	A
GLICO24h (µmol/g)	8,49	1,60	A	6,46	1,46	A
LACT1h (µmol/g)	16,50	3,22	A	14,80	3,29	A
LACT24h (µmol/g)	38,93	5,09	A	37,03	5,12	A
CORT_IV (µmol/g)	5,82	0,51	A	3,38	0,52	B
CORT_PM (µmol/g)	8,02	0,64	A	5,03	0,64	B
ACTH_IV (µmol/g)	16,91	3,76	A	16,51	3,76	A
ACTH_PM (µmol/g)	11,54	3,51	A	10,96	3,51	A

PVI e PVF: Peso Vivo Inicial e Final em quilogramas (Kg); pH_1h e pH_24h: pH intramuscular mensurado à uma e às 24 horas *post mortem*; Temp_1h e Temp_24h: Temperatura da carcaça mensurada à uma e às 24 horas *post mortem*; L*, a* e b* 1D, 7D e 14D: mensuração da cor realizada nos bifés com um, sete e 14 dias de maturação; PAC 1D, 7D e 14D: Perda de Água por Cocção (%) realizada nos bifés com um, sete e 14 dias de maturação; FC 1D, 7D e 14D: Força de cisalhamento em quilogramas força (kgf) realizada nos bifés com um, sete e 14 dias de maturação; GLICO 1h e 24h: Glicogênio muscular mensurado em amostras coletadas à 1 hora e 24 horas *post mortem*; LACT1h e 24h: Lactato muscular mensurado em amostras coletadas à 1 e 24 horas *post mortem*; CORT_V: Cortisol in vivo (µg/dL); CORT_PM: Cortisol *post mortem* (µg/dL); ACTH_IV: Hormônio adrenocorticotrófico in vivo (pg/mL); ACTH_PM: Hormônio adrenocorticotrófico *post mortem* (pg/mL).

De acordo com a estratégia utilizada neste estudo, para realização das análises estatísticas, foram consideradas apenas as proteínas encontradas em pelo menos três, das seis repetições biológicas avaliadas.

Nove peptídeos foram diferencialmente abundantes, quando considerado o nível de significância de 5% e, quando considerado o nível de significância marginal de 10%,

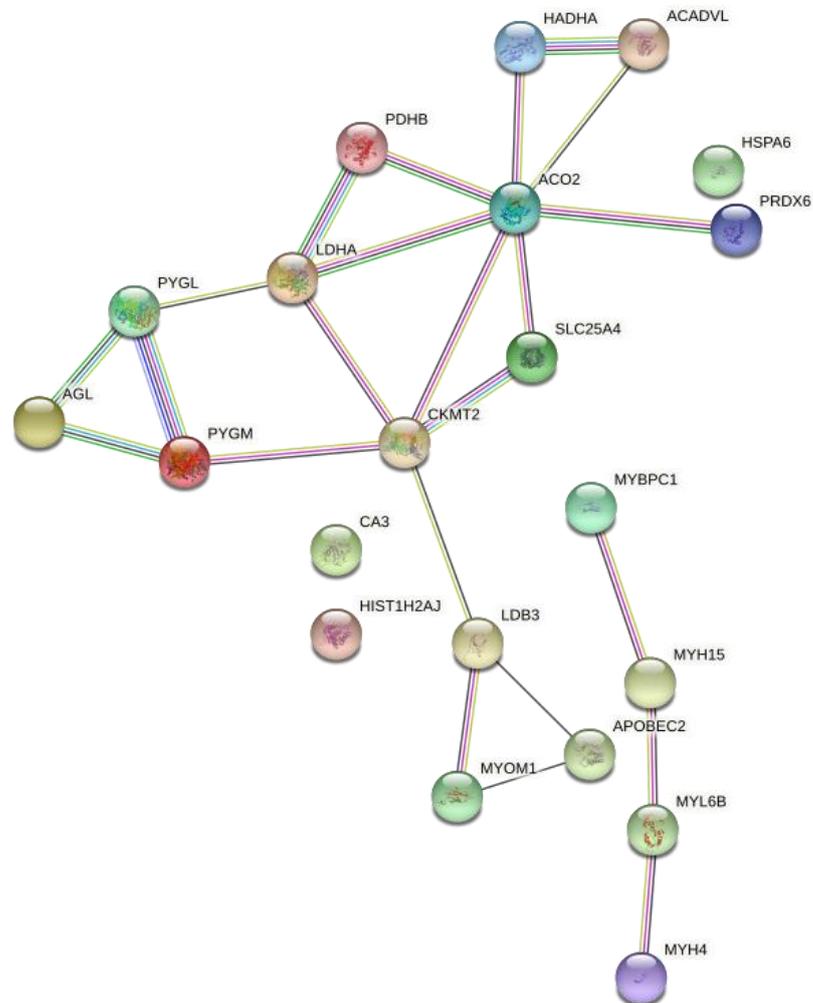
foram detectados mais doze peptídeos diferencialmente abundantes entre as condições sexuais avaliadas (Tabela 5).

Tabela 5. Proteínas diferencialmente abundantes detectados entre bovinos castrados e não castrados da raça Nelore, considerado o nível significância de 5% e ao nível de significância marginal de 10%.

Nome do Gene	Nome da Proteína	Castrados		Não Castrados		P-valor ANOVA
		Média	EP	Média	EP	
MYBPC1	MYBPC1	1023,74	43,59	1237,67	44,07	0,0022
APOBEC2	Provavelmente enzima de edição c->U	212,76	36,85	331,71	37,16	0,0063
MYH4	Miosina de cadeia pesada 4	563,37	131,16	431,06	131,56	0,0496
AGL	Amylo-alfa-1, 6-glucosidase, 4-alfa-glucanotransferase	469,04	36,74	322,87	36,74	0,0481
PYGM	Glicogênio fosforilase forma muscular	1742,40	332,71	613,78	341,63	0,0455
PRDX6	Peroxirredoxina-6	167,42	17,35	100,03	17,718	0,0267
MYL6B	Miosina de cadeia leve 6B	566,71	94,17	725,18	94,74	0,0305
ACO2	Aconitato hidratase, mitocondrial	84,38	4,62	63,12	4,66	0,0266
HADHA	Proteína HADHA	3,51	26,54	105,75	26,65	0,0005
ACADVL	Acil-CoA desidrogenase específica de cadeia muito longa, mitocondrial	44,41	7,13	59,72	7,239	0,0951
SLC25A4	ADP/ATP translocase 1	346,76	60,22	145,01	60,2236	0,0769
CA3	Anidrase carbônica 3	1098,94	157,38	1404,90	159,84	0,0888
CKMT2	Creatina-quinase tipo S, mitocondrial	555,39	52,60	726,60	49,7039	0,0627
MYOM1	Myomesina-1	406,77	27,40	462,02	27,96	0,0976
MYH15	Miosina de cadeia pesada 15	726,97	220,60	987,47	231,41	0,0849
HSPA6	Membro 6 da família de proteínas de choque térmico (HSP70)	208,22	29,33	71,81	35,93	0,0605
LDB3	Proteína de ligação ao domínio LIM3	328,55	49,00	513,35	49,00	0,0560
H2AJ	Histona H2A.J	158,04	8,39	113,77	9,87	0,0759
LDHA	Cadeia de L-lactato desidrogenase A	2134,00	103,05	1820,11	104,22	0,0830
PDHB	Subunidade β de piruvato desidrogenase E1, mitocondrial	131	43,20	186,20	43,54	0,0959
PYGL	Glicogênio fosforilase, forma hepática	134,86	92,70	588,68	119,05	0,0950

Para realização da análise de interação proteína-proteína foi utilizado o STRING comparando o banco de dados *Bos taurus* com score de confiança médio de 0,4 entre as proteínas diferencialmente abundantes entre animais castrados e não castrados (Figura 2).

Figura 2. Análise de interação proteína-proteína das proteínas diferencialmente abundantes encontradas entre animais castrados e não castrados da raça Nelore.



Através da análise de interação proteína-proteína pôde-se observar que a proteína ACO2 é a que apresenta maior rede de interações com as outras proteínas encontradas, seguida pelas proteínas CKMT2 e LDHA, sendo estas as proteínas de destaque com relação a interação.

Análises de correlação entre proteínas e todas as variáveis para as características físico-químicas, metabólicas, hormonais e relacionadas à qualidade da carne foram realizadas de três formas distintas: (i) considerando ambas as condições sexuais (Tabela 6); (ii) apenas entre as DAP identificadas e detectadas nos animais castrados (Tabela 7); e, por fim; (iii) apenas entre as DAP identificadas e detectadas nos animais não castrados (Tabela 8). Para (ii) e (iii) foram incluídas as análises de correlações as proteínas exclusivas de cada condição sexual.

Tabela 6. Estimativas de correlações *Momento-Produto de Pearson* entre as proteínas diferentemente abundantes (DAP) significativas ao nível 5% de probabilidade e as características físico-químicas, metabólicas, bioquímicas e maciez objetiva da carne, de animais castrados e não castrados avaliados simultaneamente.

Variáveis	MYBPC1	APOBEC2	MYH4	AGL	PYGM	PRDX6	MYL6B	ACO2	HADHA
PH1H	0,01575	-0,17574	-0,12905	-0,21406	-0,56515	-0,82324	-0,25103	-0,29677	-0,30558
PH24H	0,08585	-0,43328	-0,00728	-0,42613	-0,41254	-0,14461	-0,10749	-0,38030	0,22826
L1D	-0,12134	-0,38267	-0,58825	0,15637	-0,02042	-0,42792	-0,52390	-0,06345	-0,42442
A1D	-0,38646	0,70770	0,48019	0,43200	0,11984	0,51497	0,52762	0,59598	0,36101
B1D	-0,63778	0,59455	0,33701	0,65854	-0,15620	0,35003	0,25027	0,66874	0,20611
L7D	-0,01170	0,09227	-0,42547	0,35215	0,00003	-0,20696	-0,12020	0,01165	0,39874
A7D	-0,26961	0,39562	0,04179	0,23889	0,35166	0,47097	0,35939	0,44492	0,03576
B7D	0,49731	0,44539	0,10803	0,66189	0,22198	0,71869	0,23545	0,67043	0,44152
L14D	-0,10792	-0,10745	-0,48066	0,20745	0,13954	-0,18319	-0,14238	0,03429	-0,06184
A14D	-0,50962	0,39381	0,29630	0,52449	0,19683	0,73176	0,32634	0,64597	0,32373
B14D	-0,56180	0,03806	-0,23504	0,74390	0,04209	0,66594	-0,13975	0,60946	0,32597
PAC1D	0,04124	0,38312	0,64674	-0,31779	-0,06837	-0,46062	0,49671	-0,09614	-0,07243
PAC7D	-0,10454	0,71204	0,40921	0,05344	0,38156	0,47573	0,65858	0,31032	0,26590
PAC14D	-0,16110	0,53825	-0,01908	0,33081	0,30005	0,29154	0,34414	0,31162	0,32289
FC1D	0,46932	0,04692	-0,12676	-0,04607	-0,14643	-0,48845	-0,05231	-0,56806	0,04147
FCC7D	0,48341	0,13007	0,13633	-0,26082	-0,42593	-0,46405	0,00327	-0,70656	0,08165
FC14D	0,35553	-0,13599	0,03834	-0,33965	-0,30027	-0,63608	-0,07238	-0,70022	-0,19342
GLICO_1H	-0,54525	0,51127	0,08115	0,66288	0,16435	0,30713	0,12503	0,76465	0,18549
GLICO_24H	-0,20748	0,70737	0,24236	0,53622	0,32165	0,49583	0,39190	0,54719	0,33767
LACT_1H	0,13055	-0,49292	-0,67757	-0,01334	-0,08215	-0,41453	-0,40142	-0,32215	-0,44309
LACT_24H	-0,15678	0,54925	0,12769	0,24329	0,15617	0,35535	0,36212	0,32279	0,67522
CORT_IV	-0,30417	0,01469	-0,18132	0,44266	0,27838	0,66361	-0,12313	0,61346	-0,02424
CORT_PM	-0,52326	0,05941	-0,08884	0,65646	0,33838	0,74467	-0,13733	0,82870	0,03009
ACTH_IV	-0,14291	-0,23108	-0,18314	0,52965	-0,01560	0,25249	-0,16666	0,02734	0,02914
ACTH_PM	-0,35224	-0,32432	0,11307	0,25211	0,15294	0,45914	0,04644	0,10793	-0,06506

PH_1H e PH_24H: pH intramuscular mensurado à uma e às 24 horas *post mortem*; L1D, A1D, B1D, L7D, ..., B14D: valores de cor L*, a* e b* com um, sete e 14 dias de maturação; PAC1D, PAC7D e PAC14D: Perda de Água por Cocção (%) com um, sete e 14 dias de maturação; FC1D, FC7D e FC14D: Força de cisalhamento em quilogramas (kg) com um, sete e 14 dias de maturação; GLICO_1H e GLICO_24H: Glicogênio muscular mensurado em amostras coletadas à 1 hora e 24 horas *post mortem*; LACT_1H e LACT_24H: Lactato muscular mensurado em amostras coletadas à 1 e 24 horas *post mortem*; CORT_IV: Cortisol in vivo ($\mu\text{g/dL}$); CORT_PM: Cortisol *post mortem* ($\mu\text{g/dL}$); ACTH_IV: Hormônio adrenocorticotrófico in vivo (pg/mL); ACTH_PM: Hormônio adrenocorticotrófico *post mortem* (pg/mL).

Das proteínas diferencialmente abundantes entre animais castrados e não castrados, podemos destacar as proteínas: APOBEC2, AGL, PRDX6 e ACO2.

A proteína APOBEC2 foi positivamente correlacionada com os valores de cor a* e b* após um dia de maturação (0,71 e 0,59, respectivamente), perda por cozimento após sete e 14 dias de maturação (0,71 e 0,54, respectivamente), glicogênio *in vivo* e *post mortem* (0,51 e 0,71, respectivamente), e lactato *post mortem* (0,55).

A proteína AGL foi correlacionada positivamente com valores de cor a* após 14 dias de maturação (0,52), b* após um, sete e 14 dias de maturação (0,66, 0,66 e 0,74 respectivamente), glicogênio *in vivo* e *post mortem* (0,66 e 0,53 respectivamente), cortisol *post mortem* (0,66) e ACTH *in vivo* (0,53).

A proteína PRDX6 avaliada em ambas as condições sexuais demonstraram correlações positivas com valores de cor a* após um e 14 dias de maturação (0,51 e 0,73 respectivamente), b* após sete e 14 dias de maturação (0,72 e 0,66 respectivamente), cortisol *in vivo* e *post mortem* (0,66 e 0,74 respectivamente); e negativo com pH uma hora (-0,82) e força de cisalhamento após 14 dias de maturação (-0,64).

A proteína ACO2, avaliada em ambas condições sexuais, demonstraram correlações positivas com valores de cor a* após um e 14 dias de maturação (0,59 e 0,64, respectivamente), b* após um, sete e 14 dias de maturação (0,67, 0,67 e 0,61, respectivamente), glicogênio uma e 24 horas (0,76 e 0,55 respectivamente), cortisol *in vivo* e *post mortem* (0,61 e 0,83 respectivamente). Correlações negativas entre ACO2 e força de cisalhamento após um, sete e 14 dias (-0,57, -0,71 e -0,70 respectivamente) foram observadas nas análises envolvendo ambas as condições sexuais.

Das proteínas diferencialmente abundantes somente nos animais castrados, podemos destacar as proteínas: MYH4, PRDX6 e MYL6B.

A proteína MYH4 foi negativamente correlacionada com pH após uma hora (-0,57), valores de cor L* após um, sete e 14 dias de maturação (-0,86, -0,79 e -0,84, respectivamente), perda por cozimento aos 14 dias de maturação (-0,65), força de cisalhamento aos 14 dias de maturação (-0,68) e lactato *in vivo* (-0,95). A MYH4 foi positivamente correlacionada com valores de cor a* após um e 14 dias de maturação (0,73 e 0,86, respectivamente), b* aos sete e 14 dias de maturação (0,68 e 0,65, respectivamente) e cortisol *in vivo* (0,70).

A proteína PRDX6, nos animais castrados apresentou correlações positivas com valores de cor b* após sete e 14 dias de maturação (0,83 e 0,61 respectivamente), a* após 14 dias de maturação (0,68), cortisol *in vivo* e *post mortem* (0,59 e 0,70 respectivamente) e ACTH *post mortem* (0,58). Neste particular grupo, correlações negativas foram observadas com pH uma hora (-0,88), cor L* após um e sete dias de maturação (-0,71 e -0,51 respectivamente), força de cisalhamento após um e 14 dias de maturação (-0,53 e -0,75 respectivamente) e lactato *in vivo* (-0,70).

Tabela 7. Estimativas de correlações *Momento-Produto de Pearson* entre as proteínas diferentemente abundantes (DAP) significativas ao nível 5% de probabilidade e as características físico-químicas, metabólicas, bioquímicas e maciez objetiva da carne, avaliadas somente em animais castrados.

Variáveis	MYBPC1	APOBEC2	MYH4	AGL	PYGM	PRDX6	MYL6B	ACO2	HADHA
PH1H	-0,11720	0,03079	-0,56789	0,14156	-0,68300	-0,87735	-0,62396	-0,22924	-0,51819
PH24H	-0,42418	-0,69717	0,28379	-0,19775	-0,06678	0,25083	-0,18543	-0,04820	0,27960
L1D	-0,07971	-0,24803	-0,85601	0,07667	-0,27581	-0,70774	-0,70919	-0,06809	-0,20051
A1D	-0,24439	0,01882	0,72720	0,20481	0,18384	0,43637	0,44799	0,34551	-0,36687
B1D	-0,84225	-0,50947	0,21664	0,76868	-0,66777	-0,16436	-0,76903	0,45689	-0,83877
L7D	-0,06149	-0,20184	-0,78897	0,21483	0,06505	-0,50706	-0,51145	0,22271	-0,42094
A7D	0,74943	0,58508	-0,02493	-0,80137	0,33469	-0,01405	0,78136	-0,62803	0,54656
B7D	-0,65743	-0,74325	0,67711	0,36340	0,55972	0,82629	0,13285	0,79514	-0,07493
L14D	0,16194	-0,08455	-0,84206	-0,03511	0,16575	-0,47851	-0,34719	0,02210	0,14311
A14D	-0,45580	-0,37963	0,86536	0,14011	0,33706	0,68487	0,40808	0,45010	-0,16097
B14D	-0,89539	-0,87543	0,65230	0,54139	0,13427	0,61192	-0,23984	0,75957	-0,32925
PAC1D	-0,55314	-0,50973	-0,46412	0,65130	-0,12416	-0,36053	-0,75833	0,59317	-0,72185
PAC7D	0,69572	0,42907	0,23023	-0,82299	0,61547	0,40212	0,95410	-0,47666	0,77255
PAC14D	0,51619	0,20986	-0,65005	-0,34166	0,25849	-0,19597	-0,00388	-0,28080	0,62611
FC1D	0,09316	0,51086	-0,32440	0,46547	-0,29651	-0,52748	-0,18453	0,15385	-0,70497
FCC7D	-0,01350	0,34672	0,13526	0,19981	-0,86678	-0,26531	-0,34873	-0,35864	-0,32378
FC14D	-0,16282	-0,08817	-0,68056	0,29471	-0,72778	-0,75383	-0,89767	-0,14976	-0,34500
GLICO_1H	-0,43898	-0,39648	-0,45063	0,63696	-0,02349	-0,26556	-0,65390	0,59781	-0,61357
GLICO_24H	0,45821	0,78748	0,09301	0,03832	0,06427	-0,14123	0,57377	-0,08365	-0,23762
LACT_1H	0,46352	0,35657	-0,94573	-0,12734	-0,10374	-0,70417	-0,30259	-0,30016	0,10168
LACT_24H	-0,21977	-0,50869	0,15135	-0,32496	0,37374	0,15171	0,21150	0,06761	0,15541
CORT_IV	0,31892	0,48809	0,69838	-0,18441	0,23884	0,59364	0,75559	-0,11283	0,32006
CORT_PM	-0,34528	-0,28015	0,49161	0,46508	0,38723	0,70541	0,08975	0,65503	-0,06107
ACTH_IV	-0,31833	0,02212	0,23980	0,72625	-0,15865	0,23109	-0,27073	0,52641	-0,45702
ACTH_PM	-0,36746	-0,46523	0,30220	0,31416	0,23635	0,57813	-0,14659	0,46075	0,13510

PH_1H e PH_24H: pH intramuscular mensurado à uma e às 24 horas *post mortem*; L1D, A1D, B1D, L7D, ..., B14D: valores de cor L*, a* e b* com um, sete e 14 dias de maturação; PAC1D, PAC7D e PAC14D: Perda de Água por Cocção (%) com um, sete e 14 dias de maturação; FC1D, FC7D e FC14D: Força de cisalhamento em quilogramas (kg) com um, sete e 14 dias de maturação; GLICO_1H e GLICO_24H: Glicogênio muscular mensurado em amostras coletadas à 1 hora e 24 horas *post mortem*; LACT_1H e LACT_24H: Lactato muscular mensurado em amostras coletadas à 1 e 24 horas *post mortem*; CORT_IV: Cortisol in vivo (µg/dL); CORT_PM: Cortisol *post mortem* (µg/dL); ACTH_IV: Hormônio adrenocorticotrófico in vivo (pg/mL); ACTH_PM: Hormônio adrenocorticotrófico *post mortem* (pg/mL).

A proteína MYL6B, nos animais castrados, correlações positivas com a cor a* após sete dias de maturação (0,78), perda por cocção após sete dias de maturação (0,95), glicogênio após 24 horas (0,57), cortisol *in vivo* (0,76) e também apresentou correlações negativas com pH uma hora (-0,62), cor L* após um e sete dias de maturação (-0,71 e -0,51 respectivamente), b* após um dia de maturação (-0,77), perda por cozimento após um dia de maturação (-0,76), força de cisalhamento após 14 dias de maturação (-0,90) e glicogênio uma hora (-0,65).

Tabela 8. Estimativas de correlações *Momento-Produto de Pearson* entre as proteínas diferentemente abundantes (DAP) significativas ao nível 5% de probabilidade e as características físico-químicas, metabólicas, bioquímicas e maciez objetiva da carne, avaliadas somente em animais não-castrados.

Variáveis	MYBPC1	APOBEC2	MYH4	AGL	PYGM	PRDX6	MYL6B	ACO2	HADHA
PH1H	-0,47611	-0,51311	0,21217	-0,79754	-0,12308	-0,75675	-0,11408	-0,06399	-0,82742
PH24H	-0,08200	-0,49715	-0,34902	-0,30019	-0,75372	-0,17362	-0,21994	-0,20680	0,08239
L1D	0,05773	-0,69391	-0,43097	0,11313	0,47940	-0,23363	-0,51054	-0,65220	-0,79420
A1D	-0,12642	0,98492	0,63359	0,30961	-0,11115	0,57423	0,75589	0,59193	0,99049
B1D	-0,21058	0,98819	0,69931	0,33060	-0,07585	0,58371	0,81035	0,54924	0,95865
L7D	0,02695	0,40469	-0,06071	0,88369	-0,35334	0,73173	0,35985	-0,45915	0,63257
A7D	-0,36210	0,93626	0,76762	0,38142	0,00726	0,67540	0,88649	0,51171	0,86235
B7D	0,13690	0,82206	0,21664	0,63077	-0,25484	0,74363	0,53043	0,24489	0,97401
L14D	-0,33310	-0,21865	-0,09993	0,58373	-0,21738	0,33379	0,14987	-0,84902	-0,19684
A14D	0,03056	0,84835	0,33992	0,46797	-0,29800	0,69667	0,60917	0,41209	0,99033
B14D	0,35777	0,28159	-0,35586	0,61472	-0,53052	0,57229	0,06513	-0,20317	0,98694
PAC1D	-0,52342	0,48734	0,99635	-0,62526	0,93926	-0,25502	0,85447	0,80007	-0,98276
PAC7D	-0,23525	0,94014	0,73331	0,27202	0,00628	0,41274	0,76370	0,43731	0,74619
PAC14D	-0,23101	0,83082	0,55566	0,67334	0,16518	0,81521	0,75412	0,24370	0,66378
FC1D	0,25309	-0,08999	-0,33443	0,66418	0,34682	0,23791	-0,19863	-0,64374	-0,12545
FCC7D	0,20544	0,09131	-0,13355	0,51424	0,32778	0,10196	-0,08294	-0,49436	-0,12053
FC14D	-0,19417	-0,26257	0,00380	0,17285	0,28438	-0,15373	-0,07626	-0,57654	-0,61821
GLICO_1H	-0,09835	0,99603	0,67218	0,27817	0,08917	0,50759	0,72128	0,63655	0,97416
GLICO_24H	0,15329	0,97705	0,49287	0,49742	0,13023	0,52230	0,64630	0,46971	0,96239
LACT_1H	-0,10225	-0,88685	-0,54308	0,00408	-0,17222	-0,28356	-0,48980	-0,87150	-0,86638
LACT_24H	0,17497	0,82015	0,21506	0,60644	-0,11038	0,76405	0,50035	0,35899	0,97356
CORT_IV	0,62189	-0,05096	-0,48781	-0,11346	-0,09285	-0,03325	-0,42150	0,32016	0,53923
CORT_PM	0,52303	0,40504	-0,14290	-0,03829	-0,18076	0,12299	-0,06269	0,55530	0,75865
ACTH_IV	0,02356	-0,34646	-0,45640	0,67492	0,09362	0,61531	-0,11876	-0,53172	0,13059
ACTH_PM	-0,56904	-0,38796	-0,01621	0,28359	-0,78488	0,45832	0,22709	-0,41318	-0,14944

PH_1H e PH_24H: pH intramuscular mensurado à uma e às 24 horas *post mortem*; L1D, A1D, B1D, L7D, ..., B14D: valores de cor L*, a* e b* com um, sete e 14 dias de maturação; PAC1D, PAC7D e PAC14D: Perda de Água por Cocção (%) com um, sete e 14 dias de maturação; FC1D, FC7D e FC14D: Força de cisalhamento em quilogramas (kg) com um, sete e 14 dias de maturação; GLICO_1H e GLICO_24H: Glicogênio muscular mensurado em amostras coletadas à 1 hora e 24 horas *post mortem*; LACT_1H e LACT_24H: Lactato muscular mensurado em amostras coletadas à 1 e 24 horas *post mortem*; CORT_IV: Cortisol in vivo ($\mu\text{g/dL}$); CORT_PM: Cortisol *post mortem* ($\mu\text{g/dL}$); ACTH_IV: Hormônio adrenocorticotrófico in vivo (pg/mL); ACTH_PM: Hormônio adrenocorticotrófico *post mortem* (pg/mL).

Das proteínas diferencialmente abundantes somente nos animais não castrados, podemos destacar as proteínas: APOBEC2, PRDX6, MYL6B e HADHA.

Para animais não castrados, a proteína APOBEC2 apresentou estimativas de correlações negativas para pH após uma hora (-0,51), valores de cor L* após um dia de maturação (-0,69) e lactato *in vivo* (-0,89), bem como, estimativas e correlações positivas

entre valores de cor a* após um, sete e 14 dias de maturação (0,98, 0,94 e 0,85, respectivamente), b* após um e sete dias de maturação (0,99 e 0,82, respectivamente), perda por cozimento após sete e 14 dias de maturação (0,94 e 0,83, respectivamente), glicogênio *in vivo* e *post mortem* (0,99 e 0,98, respectivamente), além de lactato *post mortem* (0,82).

Já dentro somente de não castrados, correlações positivas foram verificadas entre PRDX6 e valores de cor a* após um, sete e 14 dias de maturação (0,57, 0,67 e 0,70 respectivamente), b* após um, sete e 14 dias de maturação (0,58, 0,74 e 0,57, respectivamente), L* após sete dias de maturação (0,73), perda por cozimento após 14 dias de maturação (0,81), glicogênio *in vivo* e *post mortem* (0,51 e 0,52 respectivamente), lactato *post mortem* (0,76), ACTH *in vivo* (0,61). Neste grupo (animais inteiros) apenas uma correlação negativa com pH uma hora (-0,76) foi observada.

A proteína MYL6B nos animais inteiros apresentou correlações positivas com as cores a* após um, sete e 14 dias de maturação (0,75, 0,88 e 0,61 respectivamente), b* após um e sete dias de maturação (0,81 e 0,53 respectivamente), perda por cozimento após um, sete e 14 dias de maturação (0,85, 0,76 e 0,75 respectivamente), glicogênio uma e 24 horas (0,72 e 0,64 respectivamente), lactato 24 horas (0,50). Apenas uma correlação negativa foi observada entre MYL6B e valores de cor L* após um dia de maturação (-0,51).

Dentro dos animais não castrados, a proteína HADHA apresentou estimativas de correlações positivas com valores de cor a* após um, sete e 14 dias de maturação (0,99, 0,86 e 0,99 respectivamente), a cor b* após um, sete e 14 dias de maturação (0,96, 0,97 e 0,99 respectivamente), cor L* após sete dias de maturação (0,63), perda por cozimento após sete e 14 dias de maturação (0,75 e 0,66, respectivamente), glicogênio após uma e 24 horas (0,97 e 0,96, respectivamente), lactato 24 horas (0,97), cortisol *in vivo* e *post mortem* (0,54 e 0,76 respectivamente). Ainda, dentro de animais inteiros, foram verificadas correlações negativas entre HADHA e pH uma hora (-0,83), cor L* após um dia de maturação (-0,79), perda por cozimento após um dia de maturação (-0,98), força de cisalhamento após 14 dias de maturação (-0,62) e lactato uma hora PM (-0,87).

Dentre as proteínas exclusivas do grupo dos animais castrados podemos destacar: ANXA2, NDUFS3, DLD e PFN1.

Tabela 9. Proteínas presentes somente no grupo de animais castrados e presentes em pelo menos cinco, das seis amostras biológicas avaliadas.

Nome do Gene	Nome da Proteína	Castrados			
		N	Média	DP	CV
COX6A2	Citocromo c oxidase subunidade 6A2	6	56,554	6,189	10,944
ANXA2	Anexina	5	121,053	60,257	49,777
NDUFS3	NADH desidrogenase [ubiquinona] proteína ferro-enxofre 3	5	20,326	2,208	10,864
DLD	Dihidropoil desidrogenase	5	102,390	70,718	69,068
PFN1	Profilina-1	5	48,514	12,258	25,267

A proteína ANXA2 apresentou associações negativas com a cor a* aos sete dias de maturação (-0,91) e glicogênio 24 horas (-0,96) e positiva com ACTH *in vivo* (0,91).

A proteína NDUFS3 correlacionou-se negativamente com a força de cisalhamento após um dia de maturação (-0,88) e glicogênio 24 horas (-0,96).

A proteína DLD apresentou associação positiva com valores de cor a* após um e 14 dias de maturação (0,85 e 0,82 respectivamente).

A proteína PFN1 demonstrou correlações positivas com o cortisol *post mortem* (0,92) e ACTH *in vivo* e *post mortem* (0,90 e 0,81 respectivamente).

Ao examinar os 136 peptídeos detectados somente dentro dos animais não castrados, observou-se que dois peptídeos específicos foram exclusivos deste particular grupo e foram encontradas em pelo menos cinco, das seis amostras biológicas e, simultaneamente, não foram encontrados nos animais castrados (Tabela 11).

A proteína DBI demonstrou associação positiva com valores de cor L* após sete e 14 dias de maturação (0,84 e 0,86 respectivamente), de cor b* após 14 dias de maturação (0,61), força de cisalhamento após um dia de maturação (0,88) e, correlação negativa apenas com perda por cozimento após um dia de maturação (-0,96).

Tabela 10. Estimativas de correlações *Momento-Produto de Pearson* entre as proteínas identificadas somente em animais castrados e as características físico-químicas, metabólicas, bioquímicas e maciez objetiva da carne.

Varáveis	COX6A2	ANXA2	NDUFS3	DLD	PFN1
PH1H	0,28888	-0,21195	-0,35682	-0,21451	-0,68355
PH24H	0,80666	-0,02462	0,66526	-0,27530	-0,47036
L1D	-0,21024	0,21028	0,26945	-0,59553	-0,10767
A1D	0,40985	-0,64962	-0,64633	0,85419	-0,27134
B1D	0,51940	0,52737	-0,39104	0,20901	-0,13306
L7D	-0,55025	0,23988	0,05556	-0,14993	0,56251
A7D	0,06145	-0,91964	-0,14839	-0,08840	-0,53090
B7D	0,21365	0,36120	0,16096	0,64639	0,37760
L14D	-0,60905	0,12599	0,22788	-0,55984	0,59214
A14D	0,62648	-0,36183	-0,25450	0,81892	-0,28017
B14D	0,49735	0,50605	0,18001	0,52163	0,19051
PAC1D	-0,27199	0,51175	-0,25655	0,24614	0,37096
PAC7D	-0,01601	-0,72111	0,34569	-0,04619	-0,21086
PAC14D	-0,75233	0,23078	0,52345	-0,64329	0,59522
FC1D	-0,46982	0,02257	-0,88127	0,36542	0,12519
FCC7D	0,23591	0,35647	-0,10449	-0,57040	-0,10305
FC14D	-0,11479	0,57120	0,15449	-0,57914	0,00551
GLICO_1H	-0,48355	0,60469	-0,14744	0,23425	0,64657
GLICO_24H	-0,61449	-0,95636	-0,96388	0,40181	0,07717
LACT_1H	-0,72631	0,06893	0,06477	-0,72420	0,33116
LACT_24H	0,66773	-0,66668	0,10026	0,26496	-0,72379
CORT_V	-0,00360	-0,18880	-0,28254	0,32443	0,21643
CORT_PM	-0,36859	0,74299	0,11443	0,40323	0,92123
ACTH_IV	-0,48073	0,91198	-0,23631	0,25643	0,89887
ACTH_PM	-0,23640	0,78578	0,58162	-0,00395	0,80970

PH_1H e PH_24H: pH intramuscular mensurado à uma e às 24 horas *post mortem*; L1D, A1D, B1D, L7D, ..., B14D: valores de cor L*, a* e b* com um, sete e 14 dias de maturação; PAC1D, PAC7D e PAC14D: Perda de Água por Cocção (%) com um, sete e 14 dias de maturação; FC1D, FC7D e FC14D: Força de cisalhamento em quilogramas (kg) com um, sete e 14 dias de maturação; GLICO_1H e GLICO_24H: Glicogênio muscular mensurado em amostras coletadas à 1 hora e 24 horas *post mortem*; LACT_1H e LACT_24H: Lactato muscular mensurado em amostras coletadas à 1 e 24 horas *post mortem*; CORT_IV: Cortisol in vivo ($\mu\text{g}/\text{dL}$); CORT_PM: Cortisol *post mortem* ($\mu\text{g}/\text{dL}$); ACTH_IV: Hormônio adrenocorticotrófico in vivo (pg/mL); ACTH_PM: Hormônio adrenocorticotrófico *post mortem* (pg/mL).

Tabela 11. Proteínas presentes somente no grupo de animais não castrados e presentes em pelo menos cinco, das seis amostras biológicas avaliadas.

Nome do Gene	Nome da Proteína	Não castrados			
		N	Média	DP	CV
MYH3	Proteína MYH3	6	486,486	295,107	60,661
DBI	Proteína de ligação acil-CoA	5	118,288	38,543	32,584

Tabela 12. Estimativas de correlações *Momento-Produto de Pearson* entre as proteínas identificadas somente em animais não-castrados e as características físico-químicas, metabólicas, bioquímicas e maciez objetiva da carne.

Varáveis	MYH3	DBI
PH1H	0,36047	-0,25566
PH24H	0,49741	0,33698
L1D	-0,07903	0,11628
A1D	-0,38849	-0,00027
B1D	-0,45092	0,02590
L7D	-0,22032	0,84333
A7D	-0,63770	0,03531
B7D	-0,27842	0,33744
L14D	-0,20101	0,86073
A14D	-0,28071	0,22739
B14D	0,12400	0,61353
PAC1D	-0,50356	-0,95971
PAC7D	-0,38053	0,02422
PAC14D	-0,75523	0,19446
FC1D	-0,20622	0,88158
FCC7D	-0,10508	0,54699
FC14D	-0,11953	0,30295
GLICO_1H	-0,44675	-0,12965
GLICO_24H	-0,28745	0,06242
LACT_1H	0,26914	0,46001
LACT_24H	-0,37092	0,19254
CORT_V	0,33888	-0,25565
CORT_PM	0,24104	-0,25076
ACTH_IV	-0,44565	0,49280
ACTH_PM	-0,44164	0,46077

PH_1H e PH_24H: pH intramuscular mensurado à uma e às 24 horas *post mortem*; L1D, A1D, B1D, L7D, ..., B14D: valores de cor L*, a* e b* com um, sete e 14 dias de maturação; PAC1D, PAC7D e PAC14D: Perda de Água por Cocção (%) com um, sete e 14 dias de maturação; FC1D, FC7D e FC14D: Força de cisalhamento em quilogramas (kg) com um, sete e 14 dias de maturação; GLICO_1H e GLICO_24H: Glicogênio muscular mensurado em amostras coletadas à 1 hora e 24 horas *post mortem*; LACT_1H e LACT_24H: Lactato muscular mensurado em amostras coletadas à 1 e 24 horas *post mortem*; CORT_IV: Cortisol in vivo ($\mu\text{g/dL}$); CORT_PM: Cortisol *post mortem* ($\mu\text{g/dL}$); ACTH_IV: Hormônio adrenocorticotrófico in vivo (pg/mL); ACTH_PM: Hormônio adrenocorticotrófico *post mortem* (pg/mL).

5 DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos das análises fenotípicas e de qualidade da carne entre animais castrados e não castrados, observou-se que diferenças significativas para peso vivo final, valores de cor a^* aos sete dias de maturação, força de cisalhamento aos sete e 14 dias de maturação, cortisol *in vivo* e cortisol *post mortem*. Os animais não castrados apresentaram maior PV, apresentando menores valores de cor a^* , maiores FC7D e FC14D e menores valores de CORT_IV e CORT_PM.

Estes resultados corroboram com SILVA et al. (2019a). Esses autores citaram o maior ganho de peso diário, resultando em maior peso vivo final em animais não castrados quando comparados aos castrados, caracterizando efeito anabólico da testosterona no tecido muscular esquelético.

O efeito da condição sexual sobre os valores de cor da carne neste estudo difere do que foi relatado por COSTA et al. (2019), os quais relataram ausência de significância dos valores de cor (L^* , a^* e b^*), dentre animais castrados e não castrados ao longo do período de maturação da carne. Por outro lado, MORAN et al. (2017) avaliando animais das raças Limousin e Charolais, também apontaram diferenças nos valores de cor do músculo *Longissimus thoracis* entre animais castrados e não castrados e coloração carne mais escura em animais não castrados.

A força de cisalhamento, como esperado, decresceu para ambos os grupos (animais castrados e não castrados) com o decorrer do período de maturação. Os animais castrados apresentaram menores valores de força de cisalhamento aos sete e 14 dias *post mortem* (FC7D e FC14D). Como demonstrado neste estudo, SILVA et al. (2019b) não encontraram diferenças para força de cisalhamento entre animais castrados e não castrados com apenas um dia (FC1D), sendo detectadas diferenças somente com o avanço do processo de maturação (aos sete e 14 dias *post mortem*)

Foi observado que as concentrações de cortisol *in vivo* foram inferiores às concentrações *post mortem*, tanto para os animais castrados, quanto para os animais não castrados. Além disso, os animais castrados apresentaram aumento significativo nas concentrações de cortisol, quando comparados com os animais não castrados, tanto *in vivo* quanto *post mortem*. O estudo de POLETI et al (2018) com animais não castrados também foram observados aumentos significativos *post mortem*.

A análises proteômica revelaram, em animais castrados, que as proteínas diferencialmente abundantes (DAP) MYH4, AGL, PYGM, PRDX6 e ACO2 apresentaram-

se *upregulated* em relação aos animais inteiros. As proteínas encontradas em maior abundância nos animais castrados estão relacionadas, de uma forma geral, a processos metabólicos, catabólicos e anabólicos do glicogênio, principalmente. HUANG et al (2020) relatou a proteína PYGM como uma possível candidata para manter a estabilidade da cor da carne durante o período de armazenamento *post mortem*, bem como. o estudo de GAGAOUA et al (2018) que encontrou correlação da proteína PYGM com a cor da carne. Além disso, HUANG et al (2020) encontrou as proteínas PRDX6 e ACO2 ambas relacionadas com a cor da carne, sendo que a primeira foi relatada como a mais abundante em carnes mais macias. O estudo de ZHU et al (2021) também encontrou a proteína ACO2 como uma forte candidata de proteínas S-nitrolisadas diferencialmente abundante, que se encontra *downregulated* em amostras de carne 24 horas *post mortem* com pH entre intermediário e alto. O estudo de OSWALT et al (2021), de forma semelhante ao presente estudo, encontrou a proteína PRDX6 *upregulated*, estando fortemente correlacionada à cor da carne. Assim como no nosso estudo, KIYIMBA et al (2021) encontrou a proteína MYH4 *upregulated* em cortes escuros da carne bovina, porém o mesmo estudo não descreveu o papel desta proteína no desenvolvimento da cor da carne bovina.

Por outro lado, para os animais não castrados observou-se que os peptídeos MYBPC1, APOBEC2, MYL6B e HADHA comportaram-se de forma *upregulated* em relação aos animais castrados. As proteínas encontradas em maior abundância nos animais não castrados, por outro lado, estão relacionadas principalmente à processos de oxirredução de ácidos graxos, bem como, processos envolvendo o metabolismo de RNA. O estudo de OSWALT et al (2021) correlacionou a proteína MYL6B negativamente à maciez da carne. Da mesma forma, o estudo de CHEN et al (2019), encontrou as isoformas da miosina de cadeia leve, como as proteínas MYL6B, MYL9 e MYL3 altamente correlacionadas às carnes com menor marmoreio.

As proteínas encontradas em maior abundância marginalmente significativa em animais castrados foram SLC25A4, HSPA6, H2AJ e LDHA, sendo relacionadas, de uma forma geral, ao transporte de ADP e ATP, ao transporte transmembrana, bem como, organização da cromática, alterações de configuração das proteínas, processos de oxidação/redução de carboidratos e relacionadas ao ácido carboxílico. De forma semelhante, o estudo de ZHU et al (2021) também encontrou a proteína HSP2, correlacionada à atividade e ligação do ATP, além de ser uma proteína de choque térmico. Já, outro estudo de PULFORD et al (2009), avaliando proteínas de choque

térmico, sugeriram que tais proteínas podem inibir os eventos iniciais do envelhecimento da carne e que o pH é um fator fortemente correlacionado a este processo. Um estudo de HUANG et al (2020) também encontrou a proteína LDHA como uma das proteínas envolvidas com o processo glicolítico *post mortem* afetando o grau e a velocidade da glicólise, que influencia na maciez e na cor da carne.

Já nos animais não castrados, verificou-se que, as proteínas com significância marginal e encontradas em maior abundância foram ACADV1, CA3, CKMT2, MYOM1, MYH15, LDB3, PDHB e PYGL. Essas proteínas estão relacionadas, de forma geral, à processos de oxidação e redução, especialmente de processos relacionados aos ácidos graxos, fosforilação, contração muscular, organização sarcomérica, organização dos filamentos de actina, processo de metabolismo da glicose, processos de oxirredução, bem como, processos metabólicos e catabólicos do glicogênio. O estudo de ZHU et al (2021) encontrou a proteína CKMT2 como forte candidata de proteínas S-nitrosadas diferencialmente abundante, que se encontra *downregulated* em amostras de carne 24 horas *post mortem* com pH entre intermediário e alto.

Entre as proteínas que foram exclusivas de cada condição sexual, foram detectadas cinco proteínas no grupo de animais castrados, que foram encontradas em pelo menos cinco das seis amostras grupo e que não estavam presentes em nenhuma das amostras dos animais inteiros. A proteína citocromo C oxidase subunidade 6A2 (COX6A2) é relacionada à oxidase terminal no transporte de elétrons mitocondriais. A anexina (ANXA2) é uma proteína de ligação da membrana reguladora de cálcio e normalmente referenciada como envolvida na resposta ao estresse térmico. O estudo de KIYIMBA et al. (2021), diferentemente do que foi encontrado no estudo presente, encontrou a proteína COX6A2 de forma mais abundante em cortes escuros da carne, podendo ser correlacionada aos animais mais suscetíveis ao estresse, pelo aumento do consumo do oxigênio, principalmente pelo aumento da respiração mitocondrial. Da mesma forma, o estudo de ZHU et al (2021) encontrou três proteínas relacionadas a ligação do cálcio, sendo elas APCS (componente P de amiloide sérico), SYT15 (proteína não caracterizada) e TPT1 (proteína tumoral controlada pela tradução). A NADH desidrogenase [ubiquinona] proteína ferro-enxofre 3 (F1MS25), é relacionada aos processos de interrupção/redução da via de sinalização do crescimento celular e apoptose, além de estar envolvida com espécies reativas de oxigênio. O estudo de YU et al (2017) também encontrou proteínas NADH desidrogenase [ubiquinona] 1 subunidade C2 (NDUFC2) e 1 subcomplexo 1 alfa subunidade 6 (NDUFA6), ambas

relacionadas ao stress oxidativo e à cadeia respiratória mitocondrial. O estudo de KIYIMBA et al (2021) encontrou de forma semelhante, a proteína NDUFA2 como sendo uma importante proteína relacionada ao transporte de elétrons e processos de oxirredução, sendo encontrada em maior abundância em cortes escuros da carne. A dihidropoil desidrogenase (F1N206) está associada às atividades catalíticas celulares. Já a profilina-1 (PROF1) é a proteína de ligação com a actina e afeta a estrutura do citoesqueleto e, em altas concentrações, pode impedir a polimerização da actina.

Em animais inteiros, duas proteínas foram encontradas em pelo menos cinco amostras do total de seis animais deste grupo e não foram observadas nas amostras de animais castrados. A proteína MYH3 (A6QPA6) é relacionada às ligações do filamento de actina, à atividade da ATPase e ligação ao ATP. A proteína de ligação acil-CoA (ACBP) está associada à ligação do acil-CoA aos ésteres e, possivelmente, também atua como um neuropeptídeo para modular a ação do receptor GABA.

De uma forma geral podemos observar que algumas proteínas foram preditivas para determinadas características, como: a proteína PRDX6 influencia negativamente o pH da carne a uma hora, tanto nos animais castrados quanto nos animais não castrados. A proteína MYH4 foi correlacionada negativamente de uma forma geral à cor da carne nos animais castrados, já as proteínas APOBEC2 e HADHA foram correlacionadas positivamente de uma forma geral à cor da carne nos animais não castrados. A proteína PYGM foi negativamente correlacionada à FC a sete e 14 dias de maturação, bem como a proteína MYL6B foi negativamente correlacionada à FC aos 14 dias de maturação.

Estes achados relacionados às proteínas com caráter de exclusividade em cada condição sexual são relevantes e, tais proteínas devem ser avaliadas em estudos futuros visando confirmar os resultados observados neste trabalho, devido a suas especificidades dentro de cada condição sexual. Neste sentido, sugere-se maiores estudos dessas proteínas visando verificar as possíveis correlações entre tais peptídeos e características físico-químicas e de maciez de carne, perfil metabólico e hormonal.

6 CONCLUSÕES

O presente trabalho detectou alterações significativas em características físico-químicas, bioquímicas, metabólicas e relacionadas à qualidade de carne entre bovinos da raça Nelore castrados e não castrados, particularmente para peso vivo final, força de cisalhamento aos sete e 14 dias, e cortisol *in vivo* e *post mortem*, além de valores de cor a* aos sete dias de maturação.

As análises proteômicas revelaram 21 proteínas diferencialmente abundantes entre animais castrados e inteiros. Além disso, as análises proteômicas também apontaram proteínas exclusivas em cada condição sexual avaliada.

Pôde-se observar proteínas que podem ser consideradas preditivas para determinadas características por estarem fortemente associadas a elas, como por exemplo a proteína ACO2 que foi associada negativamente à força de cisalhamento. Bem como a proteína APOBEC2 que pôde ser considerada como preditora para os valores de cor, sendo positivamente correlacionada com esta característica.

Neste sentido, sugere-se maiores estudos avaliando a importância dessas proteínas e suas possíveis relações com características físico-químicas e de maciez de carne, perfil metabólico e hormonal em animais castrados e não castrados.

REFERÊNCIAS

- ABIEC. **Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne**. Os principais dados que mostram o perfil da pecuária brasileira. Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/control/uploads/arquivos/sumario2019portugues.pdf>>. Acesso em: 12 ago. 2019.
- ALHARBI, R. A. Proteomics approach and techniques in identification of reliable biomarkers for diseases. **Saudi Journal Of Biological Sciences**, [S.L.], v. 27, n. 3, p. 968-974, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.01.020>.
- AMATAYAKUL-CHANTLER, S.; HOE, F.; JACKSON, J. A.; ROCA, R. O.; STEGNER, J. E.; KING, V.; HOWARD, R.; LOPEZ, E.; WALKER, J.. Effects on performance and carcass and meat quality attributes following immunocastration with the gonadotropin releasing factor vaccine Bopriva or surgical castration of Bos indicus bulls raised on pasture in Brazil. **Meat Science**, Victoria, v. 95, n. 1, p. 78-84, set. 2013.
- AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION - AMSA Research guidelines for cookery, sensory evaluation, and instrumental tenderness of fresh meat. **American Meat Science Association and National Live Stock and Meat Board**, Chicago, IL., 1995.
- BAZILE, J.; PICARD, B.; CHAMBON, C.; VALAIS, A.; BONNET, M.. Pathways and biomarkers of marbling and carcass fat deposition in bovine revealed by a combination of gel-based and gel-free proteomic analyses. **Meat Science**, [S.L.], v. 156, p. 146-155, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.05.018>.
- BELINE, M.; GÓMEZ, J. F. M.; ANTONELLO, D. S.; SILVA, J.; BUARQUE, V. L. M.; CÔNSOLO, N. R. B.; LEME, P. R.; MATARNEH, S. K.; GERRARD, D. E.; SILVA, S. L.. Muscle fiber type, postmortem metabolism, and meat quality of Nellore cattle with different post-weaning growth potential. **Livestock Science**, [S.L.], p. 104348-104356, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104348>.
- BENNETT, K. L.; FUNK, M.; TSCHERNUTTER, M.; BREITWIESER, F. P.; PLANAYAVSKY, M.; MOHIEN, C. U.; MÜLLER, A.; TRAJANOSKI, Z.; COLINGE, J.; SUPERTI-FURGA, G.. Proteomic analysis of human cataract aqueous humour: comparison of one-dimensional gel lcms with two-dimensional lcms of unlabelled and itraq®-labelled specimens. **Journal Of Proteomics**, [S.L.], v. 74, n. 2, p. 151-166, fev. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2010.10.002>.
- BOGDANOWICZ, J.; MODZELEWSKA-KAPITUŁA, M.; BIAŁOBRZEWSKI, I.; MOZOLEWSKI, W.. Biochemical and textural changes in beef from bulls and steers of different crossbreeds shortly after slaughter and during ageing. **Meat Science**, Olsztyn, v. 183, n. 108641, p. 1-8, ago. 2021.
- BONIN, M. N.; FERRAZ, J. B. S.; ELER, J. P.; REZENDE, F. M.; CUCCO, D. C.; CARVALHO, M. E.; SILVA, R. C. G.; GOMES, R. C.; OLIVEIRA, E. C. M. Sire effects on carcass and meat quality traits of young Nellore bulls. **Genetics And Molecular Research**, [s.l.], v. 13, n. 2, p.3250-3264, 2014. Genetics and Molecular Research. <http://dx.doi.org/10.4238/2014.april.29.3>.

- BONIN, M. N.; PEDROSA, V. B.; SILVA, S. L.; BÜNGER, L.; ROSS, D.; GOMES, R. C.; SANTANA, M. H. A.; CUCCO, D. C.; REZENDE, F. M.; ÍTAVO, L. C. V.. Genetic parameters associated with meat quality of Nellore cattle at different anatomical points of longissimus: brazilian standards. **Meat Science**, [S.L.], v. 171, p. 108281-108288, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108281>.
- BONNY, S.P.F.; HOCQUETTE, J.-F.; PETHICK, D.W.; FARMER, L.J.; LEGRAND, I.; WIERZBICKI, J.; ALLEN, P.; POLKINGHORNE, R.J.; GARDNER, G.e.. The variation in the eating quality of beef from different sexes and breed classes cannot be completely explained by carcass measurements. **Animal**, [S.L.], v. 10, n. 6, p. 987-995, 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1017/s175173111500292x>.
- BOUDON, S.; OUNAÏSSI, D.; VIALA, D.; MONTEILS, V.; PICARD, B.; CASSAR-MALEK, I. Label free shotgun proteomics for the identification of protein biomarkers for beef tenderness in muscle and plasma of heifers. **Journal Of Proteomics**, [s.l.], v. 217, p. 103685-103701, abr. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103685>.
- BOULEY, J.; MEUNIER, B.; CHAMBON, C.; DE SMET, S.; HOCQUETTE, J. F.; PICARD, B. Proteomic analysis of bovine skeletal muscle hypertrophy. **Proteomics**, v. 5, n. 2, p.490–500, fev. 2005.
- CARVALHO, M. E.; GASPARIN, G.; POLETI, M. D.; ROSA, A. F.; BALIEIRO, J. C. C.; LABATE, C. A.; NASSU, R. T.; TULLIO, R. R.; REGITANO, L. C. A.; MOURÃO, G. B.; COUTINHO, L. L. Heat shock and structural proteins associated with meat tenderness in Nellore beef cattle, a *Bos indicus* breed. **Meat Science**, [s.l.], v. 96, n. 3, p.1318-1324, mar. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.11.014>.
- CHEN, D.; LI, W.; DU, M.; CAO, B.. Adipogenesis, fibrogenesis and myogenesis related gene expression in longissimus muscle of high and low marbling beef cattle. **Livestock Science**, [S.L.], v. 229, p. 188-193, nov. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2019.09.032>.
- CHENG, H.; SONG, S.; JUNG, E-Y.; JEONG, J-Y.; JOO, S-T.; KIM, G-D.. Comparison of beef quality influenced by freeze-thawing among different beef cuts having different muscle fiber characteristics. **Meat Science**, [S.L.], v. 169, p. 108206-108213, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108206>.
- CHIZZOTTI, M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; TEDESCHI, L. O.; PAULINO, P. V. R.; PAULINO, M. F.; VALADARES, R. F. D.; AMARAL, P.; BENEDETI, P. D. B.; RODRIGUES, T. I.; FONSECA, M. A.. Net requirements of calcium, magnesium, sodium, phosphorus, and potassium for growth of Nellore x Red Angus bulls, steers, and heifers. **Livestock Science**, Petrolina, v. 124, n. 1-3, p. 242-247, set. 2009.
- CHOI, B.; RYU, K.; BONG, J.; LEE, J.; CHOY, Y.; SON, S.; HAN, O.; BAIK, M.. Comparison of steroid hormone concentrations and mRNA levels of steroid receptor genes in longissimus dorsi muscle and subcutaneous fat between bulls and steers and association with carcass traits in Korean cattle. **Livestock Science**, [S.L.], v. 131,

n. 2-3, p. 218-226, jul. 2010. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2010.04.004>.

CHRIKI, S.; PICARD, B.; JURIE, C.; REICHSTADT, M.; MICOL, D.; BRUN, J-P.; JOURNAUX, L.; HOCQUETTE, J-F.. Meta-analysis of the comparison of the metabolic and contractile characteristics of two bovine muscles: longissimus thoracis and semitendinosus. **Meat Science**, [S.L.], v. 91, n. 4, p. 423-429, ago. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.02.026>.

COSTA, C.F.; BRICHI, A.I.C.; MILLEN, D.D.; GOULART, R.S.; PEREIRA, I.C.; ESTEVAM, D.D.; PERDIGÃO, A.; MARTINS, C.L.; ARRIGONI, M.D.B.. Feedlot performance, carcass characteristics and meat quality of Nellore bulls and steers fed Zilpaterol hydrochloride. **Livestock Science**, [s.l.], v. 227, p. 166-174, set. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2019.07.017>.

DUNNE, P.G.; KEANE, M.G.; O'MARA, F.P.; MONAHAN, F.J.; MOLONEY, A.P.. Colour of subcutaneous adipose tissue and M. longissimus dorsi of high index dairy and beefxdairy cattle slaughtered at two liveweights as bulls and steers. **Meat Science**, [S.L.], v. 68, n. 1, p. 97-106, set. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.02.010>.

FANG, D.; ZHENG, Z.; MA, N.; YANG, W.; DAI, C.; ZHAO, M.; DENG, Z.; HU, Q.; ZHAO, L.. Label-free proteomic quantification of packaged *Flammulina filiformis* during commercial storage. **Postharvest Biology And Technology**, [S.L.], v. 169, p. 111312, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111312>.

FARINHA, A. P.; SCHRAMA, D.; SILVA, T.; CONCEIÇÃO, L. E.C.; COLEN, R.; ENGROLA, S.; RODRIGUES, P.; CERQUEIRA, M.. Evaluating the impact of methionine-enriched diets in the liver of European seabass through label-free shotgun proteomics. **Journal Of Proteomics**, [S.L.], v. 232, p. 104047-104059, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2020.104047>.

FERCHA, A.; CAPRIOTTI, A. L.; CARUSO, G.; CAVALIERE, C.; GHERROUCHA, H.; SAMPERI, R.; STAMPACHIACCHIERE, S.; LAGANA, A.. Gel-free proteomics reveal potential biomarkers of priming-induced salt tolerance in durum wheat. **Journal Of Proteomics**, [S.L.], v. 91, p. 486-499, out. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2013.08.010>.

FONSECA, L. F.; SILVA, D. B. S.; GIMENEZ, D. F. J.; BALDI, F.; FERRO, J. A.; CHARDULO, L. A. L.; ALBUQUERQUE, L. G. Gene expression profiling and identification of hub genes in Nellore cattle with diferente marbling score levels. **Genomics**, [s.l.], v. 112, n. 1, p. 873-879, jan. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygeno.2019.06.001>.

GAGAOUA, M.; BONNET, M.; KONING, L.; PICARD, B.. Reverse Phase Protein array for the quantification and validation of protein biomarkers of beef qualities: the case of meat color from charolais breed. **Meat Science**, [S.L.], v. 145, p. 308-319, nov. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.039>.

- GAGAOUA, M.; TERLOUW, C.; RICHARDSON, I.; HOCQUETTE, J-F.; PICARD, B. The associations between proteomic biomarkers and beef tenderness depend on the end-point cooking temperature, the country origin of the panelists and breed. **Meat Science**, [s.l.], v. 157, p.1-10, nov. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.06.007>.
- GALLEGO, M.; MORA, L.; ARISTOY, M. C.; TOLDRÁ, F.. Optimisation of a simple and reliable label-free methodology for the relative quantitation of raw pork meat proteins. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 182, p. 74-80, set. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.114>.
- GILMORE, Joshua M.; WASHBURN, Michael P.. Advances in shotgun proteomics and the analysis of membrane proteomes. **Journal Of Proteomics**, [S.L.], v. 73, n. 11, p. 2078-2091, out. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2010.08.005>.
- GISMONDI, E.; MAZZUCHELLI, G.; PAUW, E. de; JOAQUIM-JUSTO, C.; THOMÉ, J.P.. Gender differences in responses in *Gammarus pulex* exposed to BDE-47: a gel-free proteomic approach. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [S.L.], v. 122, p. 205-213, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.07.038>.
- GOBERT, M.; SAYD, T.; GATELLIER, P.; SANTÉ-LHOUTELLIER, V.. Application to proteomics to understand and modify meat quality. **Meat Science**, [S.L.], v. 98, n. 3, p. 539-543, nov. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.035>.
- GUILLEMIN, N.; JURIE, C.; CASSAR-MALEK, I.; HOCQUETTE, J.-F.; RENAND, G.; PICARD, B.. Variations in the abundance of 24 protein biomarkers of beef tenderness according to muscle and animal type. **Animal**, [S.L.], v. 5, n. 6, p. 885-894, 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1017/s1751731110002612>.
- HUANG, C.; HOU, C.; IJAZ, M.; YAN, T.; LI, X.; LI, Y.; ZHANG, D.. Proteomics discovery of protein biomarkers linked to meat quality traits in post-mortem muscles: current trends and future prospects. **Trends In Food Science & Technology**, [S.L.], v. 105, p. 416-432, nov. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.030>.
- HUANG, W.; SHERMAN, B. T.; LEMPICKI, R. A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. **Nature Protocols**, v.4, n.1, p.44–57, 2009.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Adriana Saraiva. **Rebanho bovino reduz em 2018, em ano de crescimento do abate e exportação**. 2019. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/25483-rebanho-bovino-reduz-em-2018-em-ano-de-crescimento-do-abate-e-exportacao>>. Acesso em: 25/09/2019.
- JIA, W.; SHI, Q.; ZHANG, R.; SHI, L.; CHU, X.. Unraveling proteome changes of irradiated goat meat and its relationship to off-flavor analyzed by high-throughput proteomics analysis. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 337, p. 127806, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127806>.

- JORRIN-NOVO, J. V.; KOMATSU, S.; SANCHEZ-LUCAS, R.; FRANCISCO, L. E. R.. Gel electrophoresis-based plant proteomics: past, present, and future. happy 10th anniversary journal of proteomics!. **Journal Of Proteomics**, [S.L.], v. 198, p. 1-10, abr. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2018.08.016>
- KALITA, B.; BANO, S.; VAVACHAN, V. M.; TAUNK, K.; SESHADRI, V.; RAPOLE, S.. Application of mass spectrometry based proteomics to understand diabetes: a special focus on interactomics. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Proteins And Proteomics**, [S.L.], v. 1868, n. 10, p. 140469-140483, out. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbapap.2020.140469>.
- KASPRIC, N.; PICARD, B.; REICHSTADT, M.; TOURNAYRE, J.; BONNET, M. ProteINSIDE to easily investigate proteomics data from ruminants: Application to mine proteome of adipose and muscle tissues in bovine fetuses. **PLoS One**, v. 10, n. 5, 2015.
- KESHRI, G. K.; KUMAR, G.; SHARMA, M.; BORA, K.; KUMAR, B.; GUPTA, A.. Photobiomodulation effects of pulsed-NIR laser (810 nm) and LED (808 ± 3 nm) with identical treatment regimen on burn wound healing: a quantitative label-free global proteomic approach. **Journal Of Photochemistry And Photobiology**, [S.L.], v. 6, p. 100024, jun. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpap.2021.100024>.
- KIYIMBA, F.; HARTSON, S. D.; ROGERS, J.; VANOVERBEKE, D. L.; MAFI, G. G.; RAMANATHAN, R.. Changes in glycolytic and mitochondrial protein profiles regulates postmortem muscle acidification and oxygen consumption in dark-cutting beef. **Journal Of Proteomics**, [S.L.], v. 232, p. 104016, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2020.104016>.
- LÓPEZ-PEDROUSO, M.; FRANCO, D.; SERRANO, M. P.; MAGGIOLINO, A.; LANDETE-CASTILLEJOS, T.; PALO, P.; LORENZO, J. M.. A proteomic-based approach for the search of biomarkers in Iberian wild deer (*Cervus elaphus*) as indicators of meat quality. **Journal Of Proteomics**, [S.L.], v. 205, p. 103422, ago. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2019.103422>.
- MAHMOOD, S.; TURCHINSKY, N.; PARADIS, F.; DIXON, W. T.; BRUCE, H. L. Proteomics of dark cutting longissimus thoracis muscle from heifer and steer carcasses. **Meat Science**, [s.l.], v. 137, p.47-57, mar. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.11.014>.
- MAMONE, G.; STASIO, L.; CARO, S.; PICARIELLO, G.; NICOLAI, M. A.; FERRANTI, P.. Comprehensive analysis of the peanut allergome combining 2-DE gel-based and gel-free proteomics. **Food Research International**, [S.L.], v. 116, p. 1059-1065, fev. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.045>.
- MANFREDI, M.; BRANDI, J.; CONTE, E.; PIDUTTI, P.; GOSETTI, F.; ROBOTTI, E.; MARENCO, E.; CECCONI, D.. IEF peptide fractionation method combined to shotgun proteomics enhances the exploration of rice milk proteome. **Analytical Biochemistry**, [S.L.], v. 537, p. 72-77, nov. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ab.2017.08.021>.

- MARTI, S.; JACKSON, J. A.; SLOOTMANS, N.; LOPEZ, E.; HODGE, A.; PÉREZ-JUAN, M.; DEVANT, M.; AMATAYAKUL-CHANTLER, S. Effects on performance and meat quality of Holstein bulls fed high concentrate diets without implants following immunological castration. **Meat Science**, [s.l.], v. 126, p.36-42, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.11.013>.
- MARTI, S.; REALINI, C. E.; BACH, A.; PÉREZ-JUAN, M.; DEVANT, M. Effect of vitamin A restriction on performance and meat quality in finishing Holstein bulls and steers. **Meat Science**, [s.l.], v. 89, n. 4, p.412-418, dez. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.05.003>.
- MAZON, M. R.; ANTONELLO, D. S.; GÓMEZ, J. F. M.; NUBIATO, K. E. Z.; BALAGE, J. M.; SILVA, H. B.; TAPP III, W. N.; LEME, P. R.; GOULART, R. S.; FUKUMASU, H.; JOHNSON, B. J.; PESCE, D. M. C.; SILVA, S. L. Effects of combining immunocastration and β -adrenergic agonist on the meat quality of Nellore cattle **Livestock Science**, [s.l.], v. 226, p. 13-20, ago. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2019.05.015>.
- MEGGER, D. A.; BRACHT, T.; KOHL, M.; AHRENS, M.; NABOULSI, W.; WEBER, F.; HOFFMANN, A-C.; STEPHAN, C.; KUHLMANN, K.; EISENACHER, M.. Proteomic Differences Between Hepatocellular Carcinoma and Nontumorous Liver Tissue Investigated by a Combined Gel-based and Label-free Quantitative Proteomics Study. **Molecular & Cellular Proteomics**, [S.L.], v. 12, n. 7, p. 2006-2020, jul. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1074/mcp.m113.028027>.
- MICOL, D.; OURY, M.P.; PICARD, B.; HOCQUETTE, J.F.; BRIAND, M.; DUMONT, R.; EGAL, D.; JAILLER, R.; DUBROEUCQ, H.; AGABRIEL, J.. Effect of age at castration on animal performance, muscle characteristics and meat quality traits in 26-month-old Charolais steers. **Livestock Science**, [S.L.], v. 120, n. 1-2, p. 116-126, jan. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2008.05.002>.
- MOCZKOWSKA, M.; PÓTORAK, A.; MONTOWSKA, M.; POSPIECH, E.; WIERZBICKA, A.. The effect of the packaging system and storage time on myofibrillar protein degradation and oxidation process in relation to beef tenderness. **Meat Science**, [S.L.], v. 130, p. 7-15, ago. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.03.008>.
- MONTEIRO, A. C. G.; Santos-Silva, J.; Bessa, R. J. B.; NAVAS, D. R.; LEMOS, J. P. C.. Fatty acid composition of intramuscular fat of bulls and steers. **Livestock Science**, Portugal, v. 99, n. 1, p. 13-19, jan. 2006.
- MORA, L.; GALLEGO, M.; TOLDRÁ, F. New approaches based on comparative proteomics for the assessment of food quality. **Current Opinion In Food Science**, [s.l.], v. 22, p.22-27, ago. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.005>.
- MORAN, L.; O'SULLIVAN, M.G.; KERRY, J.P.; PICARD, B.; MCGEE, M.; O'RIORDAN, E.G.; MOLONEY, A.P.. Effect of a grazing period prior to finishing on a high concentrate diet on meat quality from bulls and steers. **Meat Science**, [s.l.], v. 125, p. 76-83, mar. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.11.021>.

- MOREIRA, A. D.; SIQUEIRA, G. R.; LAGE, J. F.; BENATTI, M. B.; MORETTI, M. H.; MIGUEL, G. Z.; OLIVEIRA, I. M.; REESESENDE, F. D. Castration methods in crossbred cattle raised on tropical pasture. **Animal Production Science**, [s.l.], v. 58, n. 7, p.1307-1315, 2017. CSIRO Publishing. <http://dx.doi.org/10.1071/an16580>.
- MUELLER, L. F.; BALIEIRO, J. C. C.; FERRINHO, A. M.; MARTINS, T. S.; CORTE, R. R. P. S.; AMORIM, T. R.; FURLAN, J. J. M.; BALDI, F.; PEREIRA, A. S. C. Gender status effect on carcass and meat quality traits of feedlot Angus x Nelore cattle. **Animal Science Journal**, [s.l.], v. 90, n. 8, p.1078-1089, 25 jun. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/asj.13250>.
- MULLEN, A. M.; STAPLETON, P. C.; CORCORAN, D.; HAMILL, R. M.; WHITE, A. Understanding meat quality through the application of genomic and proteomic approaches. **Meat Science**, [s.l.], v. 74, n. 1, p.3-16, set. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.015>.
- MUNEKATA, P. E.; PATEIRO, M.; LÓPEZ-PEDROUSO, M.; GAGAOUA, M.; LORENZO, J. M. Foodomics in meat quality. **Current Opinion In Food Science**, [S.L.], v. 38, p. 79-85, abr. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.003>.
- MURPHY, B.; CROSSON, P.; KELLY, A.K.; PRENDIVILLE, R.. Performance, profitability and greenhouse gas emissions of alternative finishing strategies for Holstein-Friesian bulls and steers. **Animal**, [S.L.], v. 12, n. 11, p. 2391-2400, 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1017/s1751731118000034>.
- OSWALT, H.; SMITH, S.; WILLIAMS, B.; FERDOUS, F.; BURNS, M.; BRIDGES, W.; SCOTT, T.; DUNN, H. W.. Methodology to identify candidate genes from beef carcass traits at weaning: A pilot study. **Animal Gene**, Clemson, v. 20, n. 200113, p. 1-8, jun. 2021.
- PADRE, R. G.; ARICETTI, J. A.; MOREIRA, F. B.; MIZUBUTI, I. Y.; PRADO, I. N.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M.. Fatty acid profile, and chemical composition of Longissimus muscle of bovine steers and bulls finished in pasture system. **Meat Science**, [S.L.], v. 74, n. 2, p. 242-248, out. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.02.012>.
- PARK, S. J.; KANG, H. J.; NA, S.; LEE, S. H.; BAIK, M.. Differential expression of extracellular matrix and integrin genes in the longissimus thoracis between bulls and steers and their association with intramuscular fat contents. **Meat Science**, [S.L.], v. 136, p. 35-43, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.10.008>.
- PARRA-BRACAMONTE, G.M.; LOPEZ-VILLALOBOS, N.; MORRIS, S.T.; VÁZQUEZ-ARMIJO, J.F.. An overview on production, consumer perspectives and quality assurance schemes of beef in Mexico. **Meat Science**, [S.L.], v. 170, p. 108239-108249, dez. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108239>.
- PEACHEY, B.M; PURCHAS, R.W; DUIZER, L.M. Relationships between sensory and objective measures of meat tenderness of beef m. longissimus thoracis from bulls and steers. **Meat Science**, [S.L.], v. 60, n. 3, p. 211-218, mar. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0309-1740\(01\)00123-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0309-1740(01)00123-1).

- PICARD, B.; GAGAOUA, M.; JAMMAS, M. A.; BONNET, M. Beef tenderness and intramuscular fat proteomic biomarkers: Effect of gender and rearing practices. **Journal Of Proteomics**, [s.l.], v. 200, p.1-10, maio 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2019.03.010>.
- PICARD, B.; LEBRET, B.; CASSAR-MALEK, I.; LIAUBET, L.; BERRI, C.; BIHAN-DUVAL, E. L.; HOCQUETTE, J. F.; RANAND, G. Recent advances in omic technologies for meat quality management. **Meat Science**, [s.l.], v. 109, p.18-26, nov. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.05.003>.
- POLETI, M. D.; DERIJK, R. H.; ROSA, A. F.; MONCAU, C. T.; OLIVEIRA, P. S.; COUTINHO, L. L.; ELER, J. P.; BALIEIRO, J. C. C. Genetic variants in glucocorticoid and mineralocorticoid receptors are associated with concentrations of plasma cortisol, muscle glycogen content, and meat quality traits in male Nellore cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 51, p. 105–113, abr. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.domaniend.2014.12.004>.
- POLETI, M. D.; REGITANO, L. C. A.; SOUZA, G. H. M. F.; CESAR, A. S. M.; SIMAS, R. C.; SILVA-VIGNATO, B.; OLIVEIRA, G. B.; ANDRADE, S. C. S.; CAMERON, L. C.; COUTINHO, L. L. Longissimus dorsi muscle label-free quantitative proteomic reveals biological mechanisms associated with intramuscular fat deposition. **Journal Of Proteomics**, [s.l.], v. 179, p.30-41, maio 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2018.02.028a>.
- POLETI, M. D.; MONCAU, C. T.; SILVA-VIGNATO, B.; ROSA, A. F.; LOBO, A. R.; CATALDI, T. R.; NEGRÃO, J. A.; SILVA, S. L.; ELER, J. P.; BALIEIRO, J. C. C.. Label-free quantitative proteomic analysis reveals muscle contraction and metabolism proteins linked to ultimate pH in bovine skeletal muscle. **Meat Science**, [s.l.], v. 145, p. 209-219, nov. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.041b>.
- PULFORD, D.J.; DOBBIE, P.; VAZQUEZ, S. F.; FRASER-SMITH, E.; FROST, D.A.; MORRIS, C.A.. Variation in bull beef quality due to ultimate muscle pH is correlated to endopeptidase and small heat shock protein levels. **Meat Science**, [S.L.], v. 83, n. 1, p. 1-9, set. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.11.008>.
- PURCHAS, R.W.. An assessment of the role of pH differences in determining the relative tenderness of meat from bulls and steers. **Meat Science**, [S.L.], v. 27, n. 2, p. 129-140, jan. 1990. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(90\)90061-a](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(90)90061-a).
- PURSLOW, P. P.; GAGAOUA, M.; WARNER, R. D.. Insights on meat quality from combining traditional studies and proteomics. **Meat Science**, [S.L.], v. 174, p. 108423-108436, abr. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108423>.
- RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. **Avaliação da qualidade de carnes**: fundamentos e metodologias. Viçosa-MG: UFV, 2007. 1v.
- REICHE, A.-M.; OBERSON, J.-L.; SILACCI, P.; MESSADÈNE-CHELALI, J.; HESS, H.D.; DOHME-MEIER, F.; DUFÉY, P.-A.; TERLOUW, E.M.C.. Pre-slaughter stress and horn status influence physiology and meat quality of young bulls. **Meat Science**,

- [S.L.], v. 158, p. 107892-107904, dez. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107892>.
- RESTLE, J.; ALVES FILHO, D. C.; FATURI, C.; ROSA, J. R. P.; PASCOAL, L. L.; BERNARDES, R. A. C.; KUSS, F. Desempenho na fase de crescimento de machos bovinos inteiros ou castrados de diferentes grupos genéticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, [s.l.], v. 29, n. 4, p.1036-1043, ago. 2000. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-35982000000400013>.
- ROGOWSKA-WRZESINSKA, A.; BIHAN, M-C. L.; THAYSEN-ANDERSEN, M.; ROEPSTORFF, Peter. 2D gels still have a niche in proteomics. **Journal Of Proteomics**, [S.L.], v. 88, p. 4-13, ago. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2013.01.010>.
- ROMERO-RODRÍGUEZ, M. C.; JORRÍN-NOVO, J. V.; CASTILLEJO, M. A. Toward characterizing germination and early growth in the non-orthodox forest tree species *Quercus ilex* through complementary gel and gel-free proteomic analysis of embryo and seedlings. **Journal Of Proteomics**, [s.l.], v. 197, p.60-70, abr. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2018.11.003>.
- SALES, M. F. L.; ROSA, B. L.; PALU, A. B.; MAIA, G. F. N.; MIRANDA, L. A.; PEIXOTO, R. M.; DINIZ, J. V. A.. Productive performance and economic viability of beef cattle subjected to different castration methods in the Western Amazon. **Livestock Science**, [S.L.], v. 251, p. 104633, set. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104633>.
- SCHILLING, M.W.; SUMAN, S.P.; ZHANG, X.; NAIR, M.N.; DESAI, M.A.; CAI, K.; CIARAMELLA, M.A.; ALLEN, P.J.. Proteomic approach to characterize biochemistry of meat quality defects. **Meat Science**, [S.L.], v. 132, p. 131-138, out. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.04.018>.
- SILVA, B.; POLETI, M. D.; MONCAU, C. T.; ROSA, A. F.; SILVA, S. L.; BALIEIRO, J. C. C. Características endócrinas, metabólicas e indicadoras da qualidade da carne em bovinos Nelore castrados e não castrados. **Ciência Rural**, v. 44, n. 5, p. 904-910, mar. 2014.
- SILVA, L. H. P.; ASSIS, D. E. F.; ESTRADA, M. M.; GUTIERREZ, J. F. A.; ZAMUDIO, G. D. R.; CARNEIRO, G. B.; VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, M. F.; CHIZZOTTI, M. L. Carcass and meat quality traits of Nelore young bulls and steers throughout fattening. **Livestock Science**, [s.l.], v. 229, p.28-36, nov. 2019. Elsevier BV. <http://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.09.012b>.
- SILVA, L. H. P.; RODRIGUES, R. T. S.; ASSIS, D. E. F.; BENEDETI, P. D. B.; DUARTE, M. S.; CHIZZOTTI, M. L. Explaining meat quality of bulls and steers by differential proteome and phosphoproteome analysis of skeletal muscle. **Journal Of Proteomics**, [s.l.], v. 199, p.51-66, maio 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2019.03.004a>. Disponível em:

<<http://www.scielo.br/pdf/cr/2014nahead/a12414cr2013-0066.pdf>>. Acesso em: 25 julho 2019a.

- SILVA, V. A. M. **Estudo proteômico da carne de bovinos castrados da raça Nelore com genótipos contrastantes para CAPN e UOGCAST em diferentes períodos de maturação.** 2012. 118 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Zootecnia, Departamento de Ciências Básicas, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 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, jul. 2011. e21800. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0021800>.
- 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.; MERING, C. V. Protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. 1, p. 447-452, jan. 2015. <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gku1003>.
- TANG, B-Z.; MENG, E. ZHANG, H-J.; ZHANG, X-M.; ASGARI, S.; LIN, Y-P.; LIN, Y-Y.; PENG, Z-Q.; QIAO, T.; ZHANG, X-F.; HOU, M-Y. Combination of label-free quantitative proteomics and transcriptomics reveals intraspecific venom variation between the two strains of *Tetrastichus brontispae*, a parasitoid of two invasive beetles. **Journal Of Proteomics**, [s.l.], v. 192, p.37-53, fev. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2018.08.003>.
- TORRECILHAS, J. A.; ORNAGHI, M. G.; PASSETTI, R. A. C.; MOTTIN, C.; GUERRERO, A.; RAMOS, T. R.; VITAL, A. C. P.; SAÑUDO, C.; MALHEIROS, E. B.; PRADO, I. N.. Meat quality of young bulls finished in a feedlot and supplemented with clove or cinnamon essential oils. **Meat Science**, [S.L.], v. 174, p. 108412-108421, abr. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108412>.
- WILLIAMSON, Y. M.; MOURA, H.; SIMMONS, K.; WHITMON, J.; MELNICK, N.; REES, J.; WOOLFITT, A.; SCHIELTZ, D. M.; TONDELLA, M. L.; ADES, E.. A gel-free proteomic-based method for the characterization of *Bordetella pertussis* clinical isolates. **Journal Of Microbiological Methods**, [S.L.], v. 90, n. 2, p. 119-133, ago. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2012.04.007>.
- WINKLER, R.. ProtyQuant: comparing label-free shotgun proteomics datasets using accumulated peptide probabilities. **Journal Of Proteomics**, [S.L.], v. 230, p. 103985, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103985>.
- WU, G.; FAROUK, M.M.; CLERENS, S.; ROSENVOLD, K.. Effect of beef ultimate pH and large structural protein changes with aging on meat tenderness. **Meat Science**, [S.L.], v. 98, n. 4, p. 637-645, dez. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.010>.
- WU, S.; LUO, X.; YANG, X.; HOPKINS, D. L.; MAO, Y.; ZHANG, Y. Understanding the development of color and color stability of dark cutting beef based on mitochondrial proteomics. **Meat Science**, [s.l.], v. 163, p. 108046-108056, maio 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108046>.

- WU, S.; TANG, X.-T.; SIEMS, W. F.; BRUCE, J. E.. A hybrid LC–Gel-MS method for proteomics research and its application to protease functional pathway mapping. **Journal Of Chromatography B**, [S.L.], v. 822, n. 1-2, p. 98-111, ago. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2005.05.043>.
- XIAO, R.; LI, L.; MA, Y.. A label-free proteomic approach differentiates between conventional and organic rice. **Journal Of Food Composition And Analysis**, [S.L.], v. 80, p. 51-61, jul. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2019.04.004>.
- XU, B.; ZHANG, Y.; ZHAO, Z.; YOSHIDA, Y.; MAGDELDIN, S.; FUJINAKA, H.; ISMAIL, T. A.; YAOITA, E.; YAMAMOTO, T.. Usage of electrostatic eliminator reduces human keratin contamination significantly in gel-based proteomics analysis. **Journal Of Proteomics**, [S.L.], v. 74, n. 7, p. 1022-1029, jun. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2011.03.001>.
- YAN, Q.; MA, S.; NAN, W.; CHEN, H.; ZHANG, Q.. Label-free mass spectrometry-based proteomics for investigating the therapeutic mechanism of Sijunzi decoction on spleen deficiency syndrome. **Microchemical Journal**, [S.L.], v. 164, p. 105944, maio 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2021.105944>.
- YU, Q.; WU, W.; TIAN, X.; HOU, M.; DAI, R.; LI, X.. Unraveling proteome changes of Holstein beef M. semitendinosus and its relationship to meat discoloration during post-mortem storage analyzed by label-free mass spectrometry. **Journal Of Proteomics**, [S.L.], v. 154, p. 85-93, fev. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2016.12.012>.
- ZHAO, C.; RAZA, S. H. A.; KHAN, R.; SABEK, A.; KHAN, S.; ULLAH, I.; MEMON, S.; EL-AZIZ, A. H. A.; SHAH, M. A.; SHIJUN, L.. Genetic variants in MYF5 affected growth traits and beef quality traits in Chinese Qinchuan cattle. **Genomics**, [S.L.], v. 112, n. 4, p. 2804-2812, jul. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.03.018>.
- ZHU, Y.; GAGAOUA, M.; MULLEN, A. M.; VIALA, D.; RAI, D. K.; KELLY, A. L.; SHEEHAN, D.; HAMILL, R. M.. Shotgun proteomics for the preliminary identification of biomarkers of beef sensory tenderness, juiciness and chewiness from plasma and muscle of young Limousin-sired bulls. **Meat Science**, [S.L.], v. 176, p. 108488-108501, jun. 2021a. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108488>.
- ZHU, Q.; XING, L.; HOU, Q.; LIU, R.; ZHANG, W.. Proteomics identification of differential s-nitrosylated proteins between the beef with intermediate and high ultimate pH using isobaric iodo TMT switch assay. **Meat Science**, China, v. 172, n. 108321, p. 1-11, fev. 2021b.