

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
TESE será disponibilizado somente
a partir de 26/04/2022.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS JABOTICABAL**

**DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DE CARÇAÇA,
QUALIDADE DE CARNE, EXPRESSÃO GÊNICA E PERFIL
PROTEÔMICO DO MÚSCULO EM BOVINOS F1 ANGUS-
NELORE INTEIROS E CASTRADOS**

**Bismarck Moreira Santiago
Zootecnista**

**T
E
S
E**

/

**S
A
N
T
I
A
G
O**

**B.
M.**

2

0

2

1

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS JABOTICABAL**

**DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DE CARÇAÇA,
QUALIDADE DE CARNE, EXPRESSÃO GÊNICA E PERFIL
PROTEÔMICO DO MÚSCULO EM BOVINOS F1 ANGUS-
NELORE INTEIROS E CASTRADOS**

Msc. Bismarck Moreira Santiago

Orientador: Prof. Dr. Otávio Rodrigues Machado Neto

Coorientador: Prof. Dr. Welder Angelo Baldassini

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

S235d

Santiago, Bismarck Moreira

Desempenho, características de carcaça, qualidade de carne, expressão gênica e perfil proteômico do músculo em bovinos f1 Angus-Nelore inteiros e castrados / Bismarck Moreira Santiago. -- Jaboticabal, 2021

84 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Otávio Rodrigues Machado Neto

Coorientador: Welder Angelo Baldassini

1. Castração. 2. Ciência da carne. 3. Classe sexual. 4. Expressão gênica. 5. Proteômica. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DE CARÇAÇA, QUALIDADE DE CARNE, EXPRESSÃO GÊNICA E PERFIL PROTEÔMICO DO MÚSCULO EM BOVINOS F1 ANGUS-NELORE INTEIROS E CASTRADOS

AUTOR: BISMARCK MOREIRA SANTIAGO

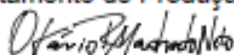
ORIENTADOR: OTAVIO RODRIGUES MACHADO NETO

COORIENTADOR: WELDER ANGELO BALDASSINI

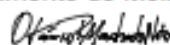
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. OTAVIO RODRIGUES MACHADO NETO (Participação Virtual)
Departamento de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva / FMVZ / UNESP Botucatu



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



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



Prof. Dr. MARCIO MACHADO LADEIRA (Participação Virtual)
Universidade Federal de Lavras / Lavras/MG



Prof. Dr. SAULO DA LUZ E SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FZEA/USP - Pirassununga/SP

Jaboticabal, 26 de outubro de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

BISMARCK MOREIRA SANTIAGO, filho de Joaquim Moreira dos Santos e Valdinea Santiago da Silva Santos, nasceu em 16 de maio de 1992, em Itarantim - Bahia. Em fevereiro de 2011, iniciou o curso de graduação em Zootecnia na Universidade Estadual da Bahia – UESB, campus de Itapetinga Bahia, finalizando em maio de 2016, obtendo o título de “Zootecnista”. Em abril de 2016, iniciou o curso de Pós-Graduação em Zootecnia *stricto sensu*, em nível de Mestrado em Zootecnia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Concentração em Produção de Ruminantes, em Itapetinga-BA, finalizando em fevereiro de 2018. Em março de 2018 ingressou-se em nível de doutorado no Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Otávio Rodrigues Machado Neto.

“Aceite a responsabilidade de sua vida. Perceba que você é o único que vai chegar
aonde você quer ir, ninguém mais.”

Les Brown

“Deem graças ao Senhor porque ele é bom; o seu amor dura para sempre.”

Salmos 107:1

A minha Mãe Valdinea, meu Pai Joaquim e a todos meus familiares e amigos, pelo carinho, afeto, dedicação e cuidado que me deram durante toda a minha existência,
com muita gratidão

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela minha vida, e por me ajudar a superar todas as dificuldades da vida.

Aos meus pais, Joaquim Moreira e Valdinea Santiago, por toda a dedicação, apoio, carinho, amor, incentivo, e exemplo de vida. Obrigado por TUDO, Amo muito vocês.

Aos meus irmãos, Bianca e Alisson, por toda torcida e incentivo, vocês são especiais em minha vida.

À minha sobrinha Thalita, por todo amor, titio ama muito você.

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

À minha companheira Shara e toda sua família, por todo apoio e incentivo na realização do curso, vocês são muito especiais em minha vida.

Aos meu orientador e amigo Prof. Dr. Otávio Rodrigues Machado Neto, pela confiança, ensinamentos e toda ajuda em minha formação acadêmica, profissional e pessoal, a ele toda admiração e gratidão.

Ao meu coorientador e amigo Prof. Dr. Welder Angelo Baldassini, por todo apoio, ensinamentos, na elaboração deste trabalho, além do companheirismo e amizade.

Ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias pela oportunidade e contribuição para obtenção do título de doutor.

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

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

Aos professores Dr. Luis Arthur Loyola Chardulo, Dr. Marcos Roberto Chiaratti e Dr. Pedro de Magalhães Padilha, pela parceria nas análises laboratoriais.

Ao Pós-Doutorando José Cavalcante do instituto de biociências de Botucatu pela ajuda e auxílio nas análises laboratoriais de proteômica.

A Fazenda Turbilhão por ceder as instalações, animais, alimentação dos animais e mão de obra para realização do experimento de campo.

Ao Frigoestrela por todo auxílio nos abates dos animais e coleta de amostras.

Aos alunos e amigos do NUPPEC que auxiliaram nas análises laboratoriais, e troca de experiências: Luiz Antônio Fogaça, João Victor, Camila Prado, Mateus Parra, Richard Vaquero, Jean Galvão, Matheus Rossi, Lucas Rodrigues, Flabiele Soares, Hozane Souza.

Aos meus amigos e companheiros da Rep Bahia, Leone Campos Rocha e Abias Santos Silva, pela ajuda nas coletas de dados do experimento e nas análises laboratoriais, além do companheirismo e amizade construídos desde a graduação.

Aos amigos em Botucatu, Mateus Ferreira, Eduardo Bueno “Du”, Lais Tomaz, Richard Vaquero, por todos os momentos de trabalho e descontração.

A Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento do projeto de auxílio à pesquisa – regular (Processo: 19/11028-0)

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

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

Muito obrigado a todos vocês!!!

SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	vi
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
Introdução.....	1
Revisão de Literatura.....	2
<i>Desempenho e características de carcaça.....</i>	2
<i>Castração animal e qualidade de carne.....</i>	3
<i>Perfil de ácidos graxos da carne.....</i>	5
<i>Expressão de genes relacionados ao metabolismo lipídico.....</i>	6
<i>A proteômica como ferramenta na avaliação da qualidade da carne.....</i>	9
Referências.....	11
CAPÍTULO 2 – Gene expression, chemical composition, and fatty acid profile of the <i>longissimus</i> muscle of F1 Angus-Nellore bulls and steers feedlot finished.....	17
Abstract.....	17
Introduction.....	18
Material and Methods.....	19
<i>Ethics Committee Statement.....</i>	19
<i>Animals and experimental diet.....</i>	19
<i>Feed intake, performance, and carcass traits.....</i>	20
<i>Slaughter and collection of samples.....</i>	21
<i>Gene expression.....</i>	22
<i>Chemical composition of meat.....</i>	27
<i>Fatty acid extraction and gas chromatography analysis.....</i>	27
<i>Statistical analysis.....</i>	28
Results.....	29
<i>Feed intake, performance, and carcass traits.....</i>	29
<i>Expression of lipogenic genes.....</i>	30
<i>Chemical composition of meat.....</i>	31
<i>Fatty acid profile.....</i>	32
Discussion.....	34
<i>Animal performance and traits.....</i>	34
<i>Expression of lipogenic genes.....</i>	34
<i>Chemical composition of meat.....</i>	36
<i>Fatty acid profile.....</i>	37
Conclusion.....	40
References.....	41
CAPÍTULO 3 – Efeito da castração sobre a características de carcaça, qualidade de carne e proteoma do músculo <i>Longissimus thoracis</i> de bovinos F1 Angus-Nelore terminados em confinamento.....	49
Resumo.....	49
Introdução.....	50
Material e Métodos.....	51
<i>Declaração do comitê de ética.....</i>	51
<i>Instalações, Animais e dieta experimental.....</i>	51
<i>Abate de coleta de amostras.....</i>	52

<i>Características de carcaça</i>	53
<i>Mensuração de pH, coloração, perdas por cocção e força de cisalhamento da carne</i>	53
<i>Determinação da concentração de minerais na carne</i>	55
<i>Análise de proteômica</i>	55
<i>Eletroforese bidimensional – 2D-PAGE</i>	56
<i>Análises de imagens</i>	56
<i>Digestão de proteínas</i>	57
<i>Identificação das proteínas</i>	57
<i>Bioinformática</i>	58
<i>Análises Estatísticas</i>	58
Resultados.....	59
Discussão.....	69
Conclusão.....	76
Referências.....	77

Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



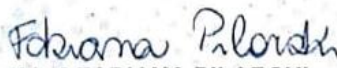
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "Desempenho, características de carcaça, qualidade de carne, expressão gênica e perfil proteômico do músculo em bovinos F1 Angus-Nelore inteiros e castrados", protocolo nº 07594/2019, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Otávio Rodrigues Machado Neto, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado "Ad referendum" pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP.

Vigência do Projeto	02/09/2019 a 29/02/2020
Espécie / Linhagem	<i>Bos indicus</i> x <i>Bos taurus</i> / Angus x Nelore
Nº de animais	640 animais
Peso / Idade	280 kg / 14 meses
Sexo	Machos
Origem	Fazenda Turbilhão

Jaboticabal, 09 de setembro de 2019.


Profª Drª FABIANA PILARSKI
 Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
 Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellano, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal/ SP - Brasil
 tel 16 3209 7100 www.fcav.unesp.br

DESEMPENHO, CARACTERÍSTICAS DE CARÇAÇA, QUALIDADE DE CARNE, EXPRESSÃO GÊNICA E PERFIL PROTEÔMICO DO MÚSCULO EM BOVINOS F1 ANGUS-NELORE INTEIROS E CASTRADOS

RESUMO - Objetivou-se investigar o efeito da classe sexual (castrados e inteiros) sobre o desempenho, características de carcaça, qualidade de carne, expressão gênica e perfil proteômico do tecido muscular de bovinos precoces F1 Angus-Nelore. Utilizou-se 640 animais, submetidos à terminação em confinamento pós-desmama por período de 180 dias. Animais castrados apresentaram menores ganho médio diário, peso final, pesos de carcaça quente e fria e área de olho de lombo. Porém, tiveram maior espessura de gordura subcutânea. A carne dos castrados apresentou menores perdas por evaporação, perdas totais e força de cisalhamento, independentemente da quantidade de dias de maturação. Entretanto, animais desse tratamento tiveram maiores perdas por gotejamento, quando comparados a animais inteiros. Notou-se que independentemente da quantidade de dias de maturação, a carne de animais castrado apresentou maior Luminosidade (L^*), intensidade de vermelho (a^*), intensidade de amarelo (b^*), chroma e hue. Todavia, a carne dos animais inteiros apresentou pH mais elevado em relação aos animais castrados. Observou-se maiores expressões dos genes lipogênicos: *Acetyl-CoA carboxylase alpha (ACACA)*, *Fatty acid binding protein 4, adipocyte (FABP4)*, *Fatty acid synthase (FASN)*, *Peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPARG)* e *Stearoyl-CoA desaturase (SCD)* no músculo *longissimus thoracis* de animais castrados, quando comparada aos inteiros. Nestes, observou-se níveis mais elevados de expressão dos genes: *Peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPARA)* e da *Sterol regulatory element binding transcription factor 1 (SREBF1)*. Observou-se que animais castrados apresentaram maiores níveis de gordura intramuscular em relação aos inteiros. A maior proporção de ácidos graxos monoinsaturados foi observada em animais castrados, representado principalmente pelo ácido oleico. No entanto, os inteiros apresentaram níveis mais elevados de ácidos graxos poliinsaturados, enquanto o conteúdo de ácidos graxos saturados não foi afetado. Ao avaliar o proteoma do músculo *Longissimus thoracis*, observou-se que a castração modulou a abundância de 15 proteínas distribuídas em 21 spots proteicos. A castração regulou positivamente as proteínas: Creatine kinase M-type (CKM), Frutose-bisfosfato aldolase (ALDOA), Gliceraldehide-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) e Troponin T, fast skeletal muscle (TNNT3). Por outro lado, nos castrados observou-se regulação negativa das proteínas: 60 kDa heat shock protein, mitochondrial (HSP60), ATP synthase subunit beta, mitochondrial (ATP5F1B), Heat shock cognate 71 kDa protein (HSPA8), Malate dehydrogenase (MDH1), Myoglobin (GLNG), Phosphoglucomutase-1 (PGM1), Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta, mitochondrial (PDHB), Triosephosphate isomerase (TPI1), Troponin I2, fast skeletal type (TNNI2). As proteínas Adenylosuccinate lyase (ADSL) e Alpha-enolase (ENO1), foram observadas apenas em amostras de animais castrados. A castração apesar de reduzir o desempenho animal é um manejo interessante a se adotar quando o objetivo é obter carne de melhor qualidade, devido seus efeitos na expressão de genes e proteínas que trazem benefícios aos atributos que definem essa característica desejada pelo consumidor.

Palavras-chave: castração, ciência da carne, classe sexual, expressão gênica, *longissimus thoracis*, proteômica

PERFORMANCE, CARCASS CHARACTERISTICS, MEAT QUALITY, GENE EXPRESSION AND PROTEOMIC MUSCLE PROFILE IN BULLS AND STEERS F1 ANGUS-NELORE.

ABSTRACT- The aim of this study was to investigate the effect of sex class (steers and bulls) on performance, carcass traits, meat quality, gene expression and proteomic profile of muscle tissue in F1 Angus-Nellore precocious cattle. A total of 640 animals were submitted to finishing in post-weaning confinement for a period of 180 days. Steers had lower average daily gain, final weight, hot and cold carcass weights, and ribeye area. However, they had greater subcutaneous backfat thickness. The meat from steers showed lower losses due to evaporation, total losses, and shear force, regardless of the number of days of maturation. However, animals in this treatment had higher drip losses when compared to bulls. It was noted that, regardless of the number of days of maturation, the meat from steers showed greater luminosity (L^*), redness (a^*), yellowness (b^*), chroma and hue. However, meat from bulls had a higher pH than steers. Greater expressions of lipogenic genes were observed: *Acetyl-CoA carboxylase alpha (ACACA)*, *Fatty acid binding protein 4, adipocyte (FABP4)*, *Fatty acid synthase (FASN)*, *Peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPARG)* and *Stearoyl-CoA desaturase (SCD)* in the longissimus thoracis muscle of steers, when compared to of the bulls. In these, higher levels of gene expression were observed: Peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPARA) and Sterol regulatory element binding transcription factor 1 (SREBF1). It was observed that steers had higher levels of intramuscular fat compared to bulls. A higher proportion of monounsaturated fatty acids was observed in steers, represented mainly by oleic acid. However, the bulls had higher levels of polyunsaturated fatty acids, while the content of saturated fatty acids was not affected. When evaluating the proteome of the Longissimus thoracis muscle, it was observed that castration modulated the abundance of 15 proteins distributed in 21 protein spots. Castration positively regulated the proteins: Creatine kinase M-type (CKM), Fructose-bisfosfato aldolase (ALDOA), Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) e Troponin T, fast skeletal muscle (TNNT3). On the other hand, in steers negative regulation of proteins was observed: 60 kDa heat shock protein, mitochondrial (HSP60), ATP synthase subunit beta, mitochondrial (ATP5F1B), Heat shock cognate 71 kDa protein (HSPA8), Malate dehydrogenase (MDH1), Myoglobin (GLNG), Phosphoglucomutase-1 (PGM1), Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta, mitochondrial (PDHB), Triosephosphate isomerase (TPI1), Troponin I2, fast skeletal type (TNNI2). The proteins Adenylosuccinate lyase (ADSL) e Alpha-enolase (ENO1) were observed only in samples from steers. Castration, despite reducing animal performance, is an interesting management to adopt when the objective is to obtain better quality meat, due to its effects on the expression of genes and proteins that bring benefits to the attributes that define the characteristics desired by the consumer.

Keywords: castration, meat science, sex class, gene expression, *longissimus thoracis*, proteomics

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

Introdução

O Brasil se destaca no agronegócio internacional como um dos principais produtores e exportadores de carne bovina (ABIEC, 2020). A raça Nelore (*Bos indicus*) e seus cruzamentos são predominantes nas regiões tropicais do país, representando 80% do rebanho brasileiro (Carvalho et al., 2014). Apesar de serem adaptadas ao clima tropical, em geral, animais zebuínos fisiologicamente são mais tardios que animais de origem Britânica (*Bos taurus*) (Pereira et al., 2017). Por essa razão, a crescente utilização da estratégia de cruzamentos entre animais de origem zebuína e taurina vem sendo adotada no intuito de obter ganhos genéticos, refletindo no maior desempenho produtivo (Rosa, 2013). Dos genótipos utilizados para cruzamento industrial, touros Aberdeen Angus são comumente utilizados em cruzamentos com vacas Nelore.

Além de cruzamentos, a busca por melhoria na qualidade da carne coloca em discussão o tema castração, pois, há indícios de que animais inteiros (não-castrados) apresentam maior possibilidade de produzir carne com coloração não satisfatória, menor teor de gordura intramuscular e menor maciez (Andreo et al., 2016; Gomez et al., 2017). Assim, os estudos têm demonstrado que a castração em bovinos Nelore e cruzados F1 Angus-Nelore confinados apresentaram melhorias nas características de cor e maciez quando comparados com inteiros. Entretanto, de forma geral, nesses estudos foram utilizados bovinos Nelore puros com idade inicial de 24 meses (Andreo et al., 2016; Gómez et al., 2017; Jacinto-valderrama et al., 2021), ou bovinos F1 Angus-Nelore (Miguel et al., 2014) com a mesma média de idade, todos terminados em confinamento por no máximo de 90 dias. Independentemente do genótipo, em nenhum desses estudos foram utilizados animais com idade inferior a 24 meses e submetidos a terminação em confinamento por 180 dias, prática bastante incomum no Brasil.

Os estudos de biologia molecular podem auxiliar na descrição de características de interesse econômico para produtores e indústria frigorífica (Lim et al., 2015). A investigação de proteínas do tecido muscular tem sido empregada na

ciência da carne para explorar a base da variação nas características da qualidade como maciez, cor, capacidade de retenção de água em zebuínos (Rodrigues et al., 2017; Silva et al., 2019) e a variação na deposição da gordura intramuscular em bovinos europeus (Mao et al., 2016; Picard et al., 2019). É interessante que nos estudos sobre qualidade de carne, primeiro se revele as redes de genes e proteínas responsáveis pelo desenvolvimento do fenótipo de qualidade desejado antes de tentar desenvolver tecnologias para prever a qualidade da carne, o que permitiria melhorar essas características de qualidade por meio de esquemas de seleção genética e manejo, para auxiliar na otimização da qualidade do produto (Gagaoua et al., 2021). Nesse contexto, objetivou-se investigar o efeito da classe sexual (castrados e inteiros) sobre o desempenho, características de carcaça, qualidade de carne, expressão gênica e perfil proteômico do tecido muscular de bovinos precoces F1 Angus-Nelore terminados em confinamento pelo período de 180 dias.

Conclusão

A castração reduz o desempenho animal e aumenta a deposição de gordura subcutânea em bovinos confinados. Bovinos F1 Angus-Nelore castrados produzem carnes com melhor coloração e maciez em comparação aos inteiros. Essas melhorias resultaram de diferenças observadas no teor de gordura intramuscular, perfil mineral e maior expressão de proteínas do metabolismo energético e enzimas glicolíticas, bem como suas interações no músculo *Longissimus thoracis*. Além disso, nos castrados a menor expressão de proteínas de estresse oxidativo contribuiu para as diferenças observadas em qualidade de carne.

Referências

Ashimore, C. R., Parker, W., & Doerr, L. (1972). Respiration of mitochondria isolated from dark-cutting beef: postmortem changes 1. *Journal of animal science*, *34*(1), 1–3. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

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

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

Bjarnadottir, S. G., Hollung, K., Høy, M., Bendixen, E., Codrea, M. C., & Veiseth-Kent, E. (2012). Changes in protein abundance between tender and tough meat from bovine *Longissimus thoracis* muscle assessed by isobaric Tag for Relative and Absolute Quantitation (iTRAQ) and 2-dimensional gel electrophoresis analysis. *Journal of Animal Science*, *90*(6), 2035-2043.

Blanco, M., Ripoll, G., Delavaud, C., & Casasús, I. (2020). Performance, carcass and meat quality of young bulls, steers and heifers slaughtered at a common body weight. *Livestock Science*, *240*(April), 104156. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104156>

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

Braga, C. P., Vieira, J. C. S., Grove, R. A., Boone, C. H. T., Leite, A. de L.,

Buzalaf, M. A. R., Fernandes, A. A. H., Adamec, J., & Padilha, P. de M. (2017). A proteomic approach to identify metalloproteins and metal-binding proteins in liver from diabetic rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 96, 817–832.

Brandstetter, A. M., Picard, B., & Geay, Y. (1998). Muscle fibre characteristics in four muscles of growing male cattle: II. Effect of castration and feeding level. *Livestock Production Science*, 53(1), 25-36.

Cafferky, J., Hamill, R. M., Allen, P., O'Doherty, J. V., Cromie, A., & Sweeney, T. (2019). Effect of Breed and Gender on Meat Quality of M. *longissimus thoracis et lumborum* Muscle from Crossbred Beef Bulls and Steers. *Foods*, 8(5), 173.

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

Canto, A. C., Suman, S. P., Nair, M. N., Li, S., Rentfrow, G., Beach, C. M., ... & King, D. A. (2015). Differential abundance of sarcoplasmic proteome explains animal effect on beef *Longissimus lumborum* color stability. *Meat science*, 102, 90-98.

D'Alessandro, A., Rinalducci, S., Marrocco, C., Zolla, V., Napolitano, F., & Zolla, L. (2012). Love me tender: An Omics window on the bovine meat tenderness network. *Journal of proteomics*, 75(14), 4360-4380.

Frank, D., Joo, S. T., Warner, R. (2016). Consumer Acceptability of Intramuscular Fat. *Korean journal of food science of animal resources*. 36. 699-708. [10.5851/kosfa.2016.36.6.699](https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.6.699).

Gagaoua, M., Terlouw, E. C., Micol, D., Boudjellal, A., Hocquette, J. F., & Picard, B. (2015). Understanding early post-mortem biochemical processes underlying meat color and pH decline in the *Longissimus thoracis* muscle of young Blond d'Aquitaine bulls using protein biomarkers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(30), 6799-6809.

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

Gagaoua, M., Terlouw, E. C., Mullen, A. M., Franco, D., Warner, R. D., Lorenzo, J. M., Purslow, P. P., Gerrard, D., Hopkins, D. L., Troy, D., & Picard, B. (2020). Molecular signatures of beef tenderness: Underlying mechanisms based on integromics of protein biomarkers from multi-platform proteomics studies. *Meat science*, 108311.

Gobert, M., Sayd, T., Gatellier, P., & Sante-Lhoutellier, V. (2014). Application to proteomics to understand and modify meat quality. *Meat science*, 98(3), 539-543.

Gómez, J. F. M., Netto, A. S., Antonelo, D. S., Silva, J., Sene, G. A., Silva, H. B., Dias, N. P., Leme, P. R., & Silva, S. L. (2017). Effects of immunocastration on the performance and meat quality traits of feedlot-finished *Bos indicus* (Nellore) cattle. *Animal Production Science*, 59(1), 183–190. <https://doi.org/10.1071/AN17102>

Gornall, A. G., Bardawill, C. J., David, M. M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *The Journal of Biological Chemistry* 177, 751–766.

Guignot, F., Touraille, C., Ouali, A., Renner, M., & Monin, G. (1994). Relationships between post-mortem pH changes and some traits of sensory quality in veal. *Meat Science*, 37(3), 315–325. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(94\)90049-3](https://doi.org/10.1016/0309-1740(94)90049-3)

Guillemin, N., Jurie, C., Cassar-Malek, I., Hocquette, J. F., Renand, G., & Picard, B. (2011). Variations in the abundance of 24 protein biomarkers of beef tenderness according to muscle and animal type. *Animal*, 5(6), 885-894.

Hocquette, J.F., Botreau, R., Legrand, I., Polkinghorne, R., Pethick, D. W., Lherm, M., Picard, B., Doreau, M., Terlouw, E. M. C. (2014). Win–win strategies for high beef quality, consumer satisfaction, and farm efficiency, low environmental impacts, and improved animal welfare. *Animal Production Science*, 54(10), 1537-

1548.

Hornemann, T., Kempa, S., Himmel, M., Hayeß, K., Fürst, D. O., & Wallimann, T. (2003). Muscle-type creatine kinase interacts with central domains of the M-band proteins myomesin and M-protein. *Journal of molecular biology*, 332(4), 877-887.

Huff-Lonergan, E., Parrish Jr, F. C., & Robson, R. M. (1995). Effects of postmortem aging time, animal age, and sex on degradation of titin and nebulin in bovine *longissimus* muscle. *Journal of animal science*, 73(4), 1064-1073.

Jacinto-Valderrama, R. A., Sampaio, G. S. L., Lima, M. L. P., Cyrillo, J. N. D. S. G., & Pflanzler, S. B. (2021). Immunocastration on performance and meat quality of *Bos indicus* (Nelore) cattle under different nutritional systems. *Scientia Agricola*, 78(2).

Jeong, J. Y., Hur, S. J., Yang, H. S., Moon, S. H., Hwang, Y. H., Park, G. B., & Joo, S. T. (2009). Discoloration characteristics of 3 major muscles from cattle during cold storage. *Journal of food science*, 74(1), C1-C5.

Joseph, P., Suman, S. P., Rentfrow, G., Li, S., & Beach, C. M. (2012). Proteomics of muscle-specific beef color stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(12), 3196-3203.

King, D. A., Shackelford, S. D., Rodriguez, A. B., & Wheeler, T. L. (2011). Effect of time of measurement on the relationship between metmyoglobin reducing activity and oxygen consumption to instrumental measures of beef *longissimus* color stability. *Meat Science*, 87, 26–32.

Koohmaraie, M., Kent, M. P., Shackelford, S. D., Veiseth, E., & Wheeler, T. L. (2002). Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship?. *Meat science*, 62(3), 345-352.

Kuss, F., López, J., Restle, J., Barcellos, J. O. J., Moletta, J. L., & Paula-Leite, M. C. D. (2010). Qualidade da carne de novilhos terminados em confinamento e abatidos aos 16 ou 26 meses de idade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(4), 924-931.

Malheiros, J. M., Braga, C. P., Grove, R. A., Ribeiro, F. A., Calkins, C. R., Adamec, J., & Chardulo, L. A. L. (2019). Influence of oxidative damage to proteins on meat tenderness using a proteomics approach. *Meat science*, 148, 64-71.

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

Moran, L., O'Sullivan, M. G., Kerry, J. P., Picard, B., McGee, M., O'riordan, E. G., & Moloney, A. P. (2017). Effect of a grazing period prior to finishing on a high concentrate diet on meat quality from bulls and steers. *Meat science*, 125, 76-83.

Moreira, A. D., Siqueira, G. R., Lage, J. F., Benatti, J. M. B., Moretti, M. H., Miguel, G. Z., De Oliveira, I. M., & De Resende, F. D. (2018). Castration methods in crossbred cattle raised on tropical pasture. *Animal Production Science*, 58(7), 1307–1315. <https://doi.org/10.1071/AN16580>

Morgan, J. B., Wheeler, T. L., Koohmaraie, M., Crouse, J. D., & Savell, J. W. (1993). Effect of castration on myofibrillar protein turnover, endogenous proteinase activities, and muscle growth in bovine skeletal muscle. *Journal of Animal Science*, 71(2), 408-414.

Needham, T., Lambrechts, H., & Hoffman, L. C. (2017). Castration of male livestock and the potential of immunocastration to improve animal welfare and production traits: Invited review. *South African Journal of Animal Sciences*, 47(6), 731–742. <https://doi.org/10.4314/sajas.v47i6.1>

Nian, Y., Allen, P., Harrison, S. M., & Kerry, J. P. (2018). Effect of castration and carcass suspension method on the quality and fatty acid profile of beef from male dairy cattle. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(11), 4339–4350. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8960>

Nogalski, Z., Pogorzelska-Przybyłek, P., Sobczuk-Szul, M., Nogalska, A., Modzelewska-Kapituła, M., & Purwin, C. (2018). Carcass characteristics and meat quality of bulls and steers slaughtered at two different ages. *Italian Journal of Animal Science*, 17(2), 279–288. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2017.1383861>

Osellame, L. D., Blacker, T. S., & Duchon, M. R. (2012). Cellular and molecular mechanisms of mitochondrial function. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*, 26(6), 711-723.

Ouali, A., Gagaoua, M., Boudida, Y., Becila, S., Boudjellal, A., Herrera-Mendez, C. H., & Sentandreu, M. A. (2013). Biomarkers of meat tenderness: present knowledge and perspectives in regard to our current understanding of the mechanisms involved. *Meat science*, 95(4), 854-870.

Picard, B., Gagaoua, M., Al Jammās, M., & Bonnet, M. (2019). Beef tenderness and intramuscular fat proteomic biomarkers: Effect of gender and rearing practices. *Journal of proteomics*, 200, 1-10.

Picard, B., Gagaoua, M., Al-Jammās, M., De Koning, L., Valais, A., & Bonnet, M. (2018). Beef tenderness and intramuscular fat proteomic biomarkers: muscle type effect. *PeerJ*, 6, e4891.

Pighin, D. G., Brown, W., Ferguson, D. M., Fisher, A. D., & Warner, R. D. (2014). Relationship between changes in core body temperature in lambs and post-slaughter muscle glycogen content and dark-cutting. *Animal Production Science*, 54(4), 459–463. <https://doi.org/10.1071/AN12379>

Ponnampalam, E. N., Hopkins, D. L., Bruce, H., Li, D., Baldi, G., & Bekhit, A. E. D. (2017). Causes and contributing factors to “dark cutting” meat: Current trends and future directions: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(3), 400-430.

Ramanathan, R., & Mancini, R. A. (2018). Role of mitochondria in beef color: A review. *Meat and Muscle Biology*, 2(1).

Reiche, A. M., Oberson, J. L., Silacci, P., Messadène-Chelali, J., Hess, H. D.,

Dohme-Meier, F., ... & Terlouw, E. M. C. (2019). Pre-slaughter stress and horn status influence physiology and meat quality of young bulls. *Meat science*, 158, 107892.

Resende, F. D., Gesualdi Junior, A., Queiroz, A. C., Faria, M. H., & Viana, A. P. (2014). Carcass characteristics of feedlot-finished Zebu and Caracu cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43(2), 67–72. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982014000200003>.

Rodrigues, R. T. S., Chizzotti, M. L., Vital, C. E., Baracat-Pereira, M. C., Barros, E., Busato, K. C., Gomes, R. A, Ladeira, M. M., Silva, M. T (2017) Differences in beef quality between Angus (*Bos taurus taurus*) and Nellore (*Bos taurus indicus*) cattle through a proteomic and phosphoproteomic approach. *PLoS ONE*, 12:1–21.

Sadowska, A., Swiderski, F., Rakowska, R., & Nogalski, Z. (2017). The quality of steer and bull meat obtained by crossing Holstein-Friesian cows with Charolais bulls. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 54(4).

Savell, J. W., Cross, H. R. (1988). The role of fat in the palatability of beef, pork, and lamb. *Designing foods: Animal product options in the marketplace*, 345.

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

Silva, L. H., Rodrigues, R. T., Assis, D. E., Benedeti, P. D., Duarte, M. S., & Chizzotti, M. L. (2019). Explaining meat quality of bulls and steers by differential proteome and phosphoproteome analysis of skeletal muscle. *Journal of proteomics*, 199, 51-66.

Suman, S. P., Hunt, M. C., Nair, M. N., & Rentfrow, G. (2014). Improving beef color stability: Practical strategies and underlying mechanisms. *Meat science*, 98(3), 490-504.

Tizioto, P. C., Gromboni, C. F., de Araujo Nogueira, A. R., de Souza, M. M., de Alvarenga Mudadu, M., Tholon, P., Rosa, A. N., Tullio, R. R., Medeiros, S. R., Nassu,

R. T., Regitano, L. C. A. (2014). Calcium and potassium content in beef: Influences on tenderness and associations with molecular markers in Nelore cattle. *Meat science*, 96(1), 436-440.

Veiseth-Kent, E., de Almeida, A. M., Picard, B., & Hollung, K. (2018). Proteomics in skeletal muscle research. In *Proteomics in Domestic Animals: from Farm to Systems Biology* (pp. 195-217). Springer, Cham.

Waritthitham, A., Lambertz, C., Langholz, H. J., Wicke, M., & Gauly, M. (2010). Assessment of beef production from Brahmanx Thai native and Charolaisx Thai native crossbred bulls slaughtered at different weights. II: Meat quality. *Meat science*, 85(1), 196-200.

Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., & Koohmaraie, M. (1996). Sampling, cooking, and coring effects on Warner-Bratzler shear force values in beef. *Journal of Animal Science*, 74(7), 1553-1562.

Zhang, Q., Lee, H.G., Han, J.A., Kim, E.B., Kang, S.K., Yin, J., Baik, M., Shen, Y., Kim, S. H., Seo, K, S., Choi, Y.J. Differentially expressed proteins during fat accumulation in bovine skeletal muscle. *Meat science*, v. 86, n. 3, p. 814-820, 2010.

Zhu, Y., Gagaoua, M., Mullen, A. M., Kelly, A. L., Sweeney, T., Cafferky, J., Viala, D., Hamill, R. M. (2021). A Proteomic Study for the Discovery of Beef Tenderness Biomarkers and Prediction of Warner–Bratzler Shear Force Measured on Longissimus thoracis Muscles of Young Limousin-Sired Bulls. *Foods*, 10(5), 952.