



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**NIELYSON JUNIO MARCOS BATISTA**

**CARACTERÍSTICAS DE CARÇAÇA *in vivo* E *in situ* E PROTEÔMICA DO  
MÚSCULO *Longissimus thoracis* DE OVINOS SANTA INÊS E SOMALIS  
BRASILEIRA TERMINADOS EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA  
PECUÁRIA NO SEMIÁRIDO DO NORDESTE DO BRASIL**

**FORTALEZA**

**2022**

NIELYSON JUNIO MARCOS BATISTA

CARACTERÍSTICAS DE CARCAÇA *in vivo* E *in situ* E PROTEÔMICA DO MÚSCULO  
*Longissimus thoracis* DE OVINOS SANTA INÊS E SOMALIS BRASILEIRA  
TERMINADOS EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA PECUÁRIA NO  
SEMIÁRIDO DO NORDESTE DO BRASIL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará e Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia. Área de Concentração: Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Arlindo de Alencar Araripe Noronha Moura.

Coorientador: Prof. Dr. João Paulo Arcelino do Rêgo.

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- B337c Batista, Nielyson Junio Marcos.  
Características de carcaça in vivo e in situ e proteômica do músculo Longissimus thoracis de ovinos Santa Inês e Somalis Brasileira terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária no semiárido do Nordeste do Brasil / Nielyson Junio Marcos Batista. – 2022.  
121 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2022.

Orientação: Prof. Dr. Arlindo de Alencar Araripe Noronha Moura.  
Coorientação: Prof. Dr. João Paulo Arcelino do Rêgo.

1. Biomarcadores. 2. Ciências ômicas. 3. Ovinos. I. Título.

CDD 636.08

---

NIELYSON JUNIO MARCOS BATISTA

CARACTERÍSTICAS DE CARCAÇA *in vivo* E *in situ* E PROTEÔMICA DO MÚSCULO  
*Longissimus thoracis* DE OVINOS SANTA INÊS E SOMALIS BRASILEIRA  
TERMINADOS EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA PECUÁRIA NO  
SEMIÁRIDO DO NORDESTE DO BRASIL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Ceará e Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia. Área de Concentração: Produção Animal.

Aprovada em: 05/04/2022.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Arlindo de Alencar Araripe Noronha Moura (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Patrícia Guimarães Pimentel  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Ana Sancha Malveira Batista  
Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA)

---

Prof. Dr. Alfredo Jorge Costa Texeira  
Instituto Politécnico de Bragança

---

Prof. Dr. João Paulo Arcelino do Rêgo  
Instituto Federal do Ceará (IFCE)

---

Dra. Denise Damasceno Guerreiro  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus Avós, Sr. Lulu (*In memorian*), Sr. Gelson (*In memorian*) e Dona Francimar, minha base, meus exemplos e que me ensinam a sempre lutar pelos meus objetivos.

**Dedico!**

## AGRADECIMENTOS

Não quero e não devo fazer um agradecimento curto, pois esses anos de estudo foram marcados por desafios, angústias e inseguranças, mas também por superação e vitórias. Nesse período tive que me desconstruir para me reconstruir, como pessoa e profissional. Nenhum sonho é alcançado de forma fácil, sem mérito, sem esforço e sem pessoas para lhe guiar ou inspirar. Por esse motivo gostaria de agradecer a todos aqueles que contribuíram nas mais variadas formas ao longo do desenvolvimento dessa pesquisa.

A Deus, por me conceder o dom da vida, por sua infinita misericórdia e por me permitir ter chegado até aqui, por todas as graças alcançadas e pela sua presença em meus dias.

A Nossa Senhora, por me fazer entender que a paciência é uma virtude, por me colocar em seu precioso manto e nunca me desamparar.

À Universidade Federal do Ceará (UFC), ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, ao corpo docente e a todos os funcionários dessa instituição ímpar na formação de profissionais, aqui foram anos de muito aprendizado.

Ao meu Orientador o Professor Doutor Arlindo de Alencar Araripe Noronha Moura, pela oportunidade concedida para cursar o doutorado, pelas condições de trabalho ofertadas para obtenção desse título e pelos ensinamentos durante o curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo recurso concedido para realização do projeto e a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP pela concessão da bolsa de doutorado.

Ao meu Coorientador o Professor Doutor João Paulo Arcelino do Rêgo, por confiar a execução do trabalho a mim, pelas críticas construtivas no decorrer do estudo, por ter buscado as melhores condições de trabalho para mim e os demais e principalmente pelos ensinamentos.

Ao Dr. Fábio Vasconcelos pelo apoio durante a condução das análises laboratoriais e por toda sugestão pertinente no decorrer do trabalho.

Ao professor Celso Nagano, pelo apoio e parceria na realização das análises laboratoriais.

Carinhosamente agradeço a Professora Doutora Ana Sancha Malveira Batista, pelos conselhos e conversas inteligentes e, sobretudo pelo exemplo de pessoa e profissional,

características que contribuem de forma valiosa na minha formação, desde a graduação. Sou grato!

Agradeço de forma muito especial, a Professora Doutora Patrícia Guimarães Pimentel, pelo respeito e apoio durante a minha vivência na Universidade Federal do Ceará e por me fazer se sentir em paz em momentos de conversa, lhe tenho muito carinho e uma admiração incalculável, sou grato por tudo.

Aos membros que participaram das bancas de qualificação e defesa, pelas críticas oportunas, pois essas contribuíram para o enriquecimento do trabalho, em todos os estágios. Foi uma honra tê-los em minha formação profissional. Muito obrigado!

A minha família, em especial aos meus pais Edna Maria Batista e Antônio Nilo Marcos de Oliveira, meus irmãos Nikaelyson John Marcos Batista e Letícia Vitória Marques Batista, meus avós, tias e primos, vocês não sabem o quão difícil é ficar longe de vocês. Obrigado pelo amor incondicional.

Ao João Paulo por todo companheirismo, pelos puxões de orelha, por acreditar no meu potencial e em muitos momentos ser base e inspiração para mim. Obrigado.

A minha “segunda” família, família Baia, aqui representados pela D. Francisca, Sr. Gessé, Tia Dedé e Tio Antonio Baia, Cirlania, Ana Jussara, Wagner, Hilda Lara, Dodora, Socorro, Chico, Darlen e os sobrinhos posiços Arthur e Rafael, vocês sem sombra de dúvidas foram e são fonte de força e perseverança. Obrigado.

Aos meus amigos, aqueles de longas datas e os mais recentes, vocês não fazem ideia do quanto contribuíram para realização desse sonho. Posso está cometendo um erro não listando todos, mas alguns, preciso mencionar Kamila Sousa, Thays Martins, Mayara Araújo, Moemia Portela, Ylana Galiza, Helena Onody, Edilma Mendes, George Abreu, Juliana Rodrigues... Obrigado!

Aos amigos que fiz durante a trajetória no laboratório de Fisiologia Animal e Pós Graduação: Bruna, Renato, Tauane, Arabela, Revila, Eduardo, Danuza, Patricia, Luana, Aderson, Mariana, Kaka, Mayra, Dayse, Monica, Isabela, Ana Luiza, Thais, Taciane, Solange, Julia, Luanda.

Aos meus companheiros de experimento Thyarlon, Loran, Juliana Xavier, Mateus, Pedro Paulo, Anny Suellen, Débora sem vocês isso seria bem mais difícil, obrigado pela dedicação e perseverança, rogo a Deus que estejam trilhando novos caminhos e felizes.

Algumas instituições também merecem agradecimentos, face às contribuições que deram e que culminaram com a realização desse projeto.

A Universidade Estadual do Piauí e aos professores do *Campus* Deputado Jesualdo Cavalcanti, instituição na qual faço parte do quadro de professores efetivos, sou muito grato!

Ao Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), particularmente aos *Campi* de Tauá (na pessoa do professor José Alves Neto) e Boa Viagem, aos funcionários que fazem parte dessa instituição, pois não mediram esforços para apoiar a execução da pesquisa.

A prefeitura municipal de Tauá, a Escola Agrícola Cenecista Francisca Cavalcante Fialho e a todos os funcionários que fazem parte dessas instituições, obrigado. Ao Marcos Vieira, Nanam, Leda e a todos os funcionários da Escola Agrícola Cenecista Francisca Cavalcante Fialho pelas conversas, alegrias compartilhadas, almoços, acolhidas e brincadeiras.

A Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA) e aos funcionários que fazem parte dessa instituição, obrigado.

**Obrigado!**



## RESUMO

A exploração de ovinos é uma importante atividade pecuária no Nordeste do Brasil, por gerar renda e contribuir com o desenvolvimento social, particularmente, de pequenos e médios produtores. Na ovinocultura, entre as fases do sistema de produção, a terminação de borregos, vem sendo amplamente debatida e estudada nos últimos anos, devido à alta demanda por produtos de melhor qualidade para atender o mercado consumidor. Nesse sentido, o presente estudo avalia a qualidade da carne de borregos Santa Inês e Somalis Brasileira terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária por meio da avaliação *in vivo*, na carcaça e por abordagem proteômica. Para isso, foram utilizados 28 borregos (14 Santa Inês e 14 Somalis Brasileira), não castrados, com peso corporal médio inicial ( $18 \pm 3$ kg) e aproximadamente 120 dias de idade, em delineamento inteiramente ao acaso. Os animais foram identificados, pesados, vermifugados e mantidos em uma área de 1 hectare, sob sistema de sequeiro, onde foram plantados milho (*Zea mays*) como componente agrícola e duas espécies forrageiras para pastejo, capim massai [*Megathyrus maximus* cv. Massai (*Sin. Panicum maximum*)] e cunhã (*Clitorea ternatea*), em sistema de Integração Lavoura Pecuária, além de serem suplementados com ração concentrada (73% milho grão moído, 23% farelo de soja, 1,2% núcleo mineral comercial, 1% cloreto de sódio, 1% de ureia e 0,8% calcário) na proporção de 2% do peso corporal. A duração do experimento foi determinada pelo tempo necessário para que a média de peso corporal de um dos grupos experimentais atingisse 28kg, momento em que todos os animais foram abatidos. Posteriormente ao abate foram realizadas as análises da carcaça. Ainda, logo após o abate, 20 amostras de músculo *Longissimus thoracis* foram coletadas e armazenadas até o momento da análise proteômica, por meio de eletroforese bidimensional e espectrometria de massa. Os maiores rendimentos de carcaça ( $P < 0,05$ ) foram observados nos borregos Somalis Brasileira (44,60%) em comparação a raça Santa Inês (42,23%), que apresentou maior ( $P < 0,05$ ) perda de peso ao resfriamento (1,24%). Com relação aos cortes cárneos, foi observado maior ( $P < 0,05$ ) rendimento de pescoço (7,47%) nos borregos Santa Inês, enquanto o maior ( $P < 0,05$ ) rendimento de lombo posterior (6,89%), costelas (7,96%) e fraldinha (4,83%) foi observado nos borregos Somalis Brasileiras. A análise da composição de pernil indicou maior ( $P < 0,05$ ) proporção de tecido muscular (67,64%) e ósseo (20,75%) na raça Santa Inês, entretanto maior ( $P < 0,05$ ) percentual de gordura (22,97%) na Somalis Brasileira. Na análise de correlação de Pearson foi observado alta correlação entre a área de olho de lombo medida na carcaça e por ultrassonografia (0,81) e entre a espessura de gordura subcutânea na carcaça e por ultrassonografia, correlação

moderada entre o peso de carcaça quente e área de olho de lombo na carcaça (0,56) e por ultrassonografia (0,55), o rendimento de carcaça quente e o índice de compacidade da carcaça (0,67) e espessura de gordura subcutânea na carcaça (0,56). Em relação à análise proteômica, em média foram detectados  $202 \pm 15$  spots nos géis da raça Somalis Brasileira e  $212 \pm 12$  spots nos géis da raça Santa Inês. Um total de 126 spots no gel do Somalis Brasileira e 123 spots no gel do Santa Inês foram identificados por espectrometria de massa, correspondendo a 39 e 51 diferentes proteínas, respectivamente. Proteínas estruturais estavam presentes em maior abundância no mapa proteico das duas raças. Identificou-se ainda, proteínas associadas ao metabolismo energético, organização celular e atuantes no estresse oxidativo em ambas as raças. Em conclusão, a análise das características *in vivo* e as aferições na carcaça resultou na identificação de rendimentos de carcaça, de cortes cárneos, índices de musculidade e cobertura de gordura subcutânea interessantes para compreensão da eficiência do sistema de produção adota na terminação dos borregos, além disso, a análise de amostras de *Longissimus thoracis* por 2-D SDS-PAGE e LC-MS/MS resultou na identificação de proteínas associadas a eventos fisiológicos e bioquímicos potencialmente envolvidos com a qualidade da carne em ovinos. Os resultados do presente estudo abrem novas perspectivas para futuras pesquisas focadas na avaliação da qualidade da carne de borregos deslanados criados em regiões tropicais.

**Palavras-chave:** biomarcadores; ovinos; proteômica.

## ABSTRACT

Sheep farming is an important livestock activity in Northeast Brazil, as it generates income and contributes to social development, particularly for small and medium-sized producers. In sheep farming, among the stages of the production system, the finishing of lambs, has been widely discussed and studied in recent years, due to the high demand for better quality products to meet the consumer market. In this sense, present study evaluates the meat quality of Santa Inês and Brazilian Somalis lambs finished in an Integrated Crop Livestock system through *in vivo* evaluation, in the carcass and by proteomic approach. For this, 28 lambs (14 Santa Inês and 14 Brazilian Somalis), not castrated, with initial average body weight ( $18 \pm 3$  kg) and approximately 120 days of age, were used in a completely randomized design. The animals were identified and kept in one hectare of an area defined as a Crop Livestock Integration system. This area contained corn (*Zea mays*) plants and two forage species, massai grass [*Megathyrus maximus* cv. massai (Sin. *Panicum maximum*)] and “cunhã” (*Clitorea ternatea*). Animals were allowed free grazing in that area during the experiment and daily supplemented (2% of body weight) with concentrate (73% corn, 23% soybean meal, 1.2% mineral core, 1% sodium chloride, 1% urea and 0.8%). The duration of the experiment was determined by the time required for the average body weight of one of the experimental groups to reach 28 kg, at which time all animals were slaughtered. After slaughter, carcass analyzes were carried out. Also, shortly after slaughter, 20 samples of *Longissimus thoracis* muscle were collected and stored until the time of proteomic analysis, by means of two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry. The highest carcass yields ( $P < 0.05$ ) were observed in Brazilian Somalis lambs (44.60%) compared to the Santa Inês breed (42.23%), which on the other hand showed higher ( $P < 0.05$ ) weight loss on cooling (1.24%). Regarding meat cuts, the highest ( $P < 0.05$ ) neck yield (7.47%) was observed in Santa Inês lambs, while the highest ( $P < 0.05$ ) hind loin yield (6.89%), ribs (7.96%) and flank steak (4.83%) in Brazilian Somalis. The analysis of tissue composition indicated a higher ( $P < 0.05$ ) proportion of muscle tissue (67.64%) and bone tissue (20.75%) in Santa Inês breed, but a higher ( $P < 0.05$ ) percentage of fat (22.97%) in Brazilian Somali. In Pearson's correlation analysis, a high correlation was observed between the loin eye area measured in the carcass and by ultrasonography (0.81) and between the subcutaneous fat thickness in the carcass and by ultrasonography, a moderate correlation between hot carcass weight and loin eye area in the carcass (0.56) and by ultrasonography (0.55), the hot carcass yield and the carcass

compactness index (0.67) and subcutaneous fat thickness in the carcass (0.56). About proteomic analysis on average,  $202 \pm 15$  and  $212 \pm 12$  spots were detected in the 2-D gels with LT muscle proteins from Brazilian Somalis and Santa Inês lambs, respectively. The spots present in the master gel correspond to the spots detected in the reference gels and spots added from other match sets. A total of 126 spots in the Brazilian Somalis and 123 spots in the Santa Inês gel were identified by mass spectrometry, corresponding to 39 and 51 different proteins, respectively. Structural proteins present in two abundances in the protein map of the races. Proteins associated with energy metabolism, cellular organization and acting on oxidative stress were also identified in both races. Therefore, the analysis of the in vivo characteristics and the measurements on the carcass resulted in the identification of carcass yields, meat cuts, muscularity indices and subcutaneous fat coverage interesting for understanding the efficiency of the production system adopted in the finishing of lambs., in addition, the analysis of the hour sample of *Longissimus thoracis* by 2-D SDS-A PAGE/MS resulted in contracted chemical and biological properties from the identification of MS/MS with a chemical quality event. Results of the present open new perspectives for the future of research focused on the evaluation of meat from hairless lambs raised in tropical regions.

**Keywords:** biomarkers; sheep; proteomics.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Imagem ultrassonográfica para realização da avaliação da área de olho de lombo e da espessura de gordura subcutânea (1A) e da profundidade do *Longissimus dorsi* na lombar e espessura de gordura subcutânea na lombar (1B) em borregos deslanados adaptados as condições tropicais, terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária..... 27
- Figura 2 - Mapa bidimensional das proteínas do músculo *Longissimus thoracis* (LT) de borregos deslanados. (A) Representa o gel mestre gerado pelo software PDQuest (Bio-rad, EUA), baseado em um match set com todos os 20 géis usados no estudo. (B) Gel representativo de proteínas LT da raça Santa Inês. (C) Gel representativo de proteínas LT de Somalis brasileira..... 48
- Figura 3 - Análise de interação *in silico* de proteínas do *Longissimus thoracis* de borregos Somalis Brasileira (2A) e Santa Inês (2B), conforme determinado pelo software STRING versão 11.0 ..... 49
- Figura 4 - Termos de ontologia gênica de proteínas do músculo *Longissimus thoracis* de borregos de raças localmente adaptadas (Somalis brasileira e Santa Inês) criados em sistema de integração lavoura-pecuária no Nordeste do Brasil, associados ao processo biológico, função molecular, componente celular e classe proteica. Os dados e a identificação das proteínas foram analisados pelo sistema de classificação Panther (<http://geneontology.org/>) e com base no banco de dados UniprotKB..... 51

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição química ( $\text{g kg}^{-1}$ MS) do pasto (pré-pastejo e no pastejo) e da ração concentrada utilizada na terminação de borregos deslanados adaptados as condições tropicais, terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária .....	26
Tabela 2 -	Medidas por ultrassonografia da área de olho de lombo (AOLU), espessura de gordura subcutânea (EGSU), espessura de gordura subcutânea na lombar (EGSL) e profundidade do <i>Longissimus dorsi</i> na lombar (PLDL) de borregos deslanados adaptados às condições tropicais, terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária .....	30
Tabela 3 -	Características da carcaça de borregos deslanados adaptados as condições tropicais, terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária .....	31
Tabela 4 -	Rendimento dos cortes cárneos da carcaça de borregos deslanados adaptados as condições tropicais, terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária .....	32
Tabela 5 -	Composição tecidual do pernil de borregos deslanados adaptados às condições tropicais, terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária .....	32
Tabela 6 -	Coefficiente de correlação de Pearson entre as avaliações <i>in vivo</i> por ultrassonografia e as características da carcaça de borregos deslanados, terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária .....	33

## SUMÁRIO

1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS .....	17
2	CAPÍTULO I - CARACTERÍSTICAS DA CARÇA DE BORREGOS DESLANADOS ADAPTADOS AS CONDIÇÕES TROPICAIS TERMINADOS EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA PECUÁRIA .....	19
2.1	Introdução .....	24
2.2	Material e Métodos .....	25
2.2.1	<i>Local, animais e delineamento experimental</i> .....	25
2.2.2	<i>Análise in vivo da carcaça por ultrassonografia</i> .....	26
2.2.3	<i>Abate, pesos e rendimentos da carcaça</i> .....	27
2.2.4	<i>Mensurações na carcaça, obtenção dos índices de musculosidade e espessura de gordura subcutânea</i> .....	28
2.2.5	<i>Composição tecidual do pernil</i> .....	29
2.2.6	<i>Análise estatística</i> .....	29
2.3	Resultados .....	29
2.4	Discussão .....	34
2.5	Conclusão .....	37
3	CAPÍTULO II - PERFIL PROTEÔMICO DO MÚSCULO <i>Longissimus thoracis</i> DE BORREGOS DE RAÇAS LOCALMENTE ADAPTADAS AO SEMIÁRIDO BRASILEIRO .....	38
3.1	Introdução .....	41
3.2	Material e métodos .....	42
3.2.1	<i>Animais experimentais</i> .....	42
3.2.2	<i>Coleta e processamento da amostra</i> .....	43
3.2.3	<i>Extração de proteínas e eletroforese bi-dimensional</i> .....	43
3.2.4	<i>Análises das imagens e dados</i> .....	44
3.2.5	<i>Digestão com tripsina de proteínas do Longissimus thoracis</i> .....	44
3.2.6	<i>Identificação de proteína por espectrometria de massa</i> .....	45
3.2.7	<i>Análises de bioinformática</i> .....	46
3.3	Resultados .....	46
3.4	Discussão .....	51

<b>3.5</b>	<b>Conclusão .....</b>	<b>56</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>57</b>
	<b>APÊNDICE A – LISTA DE SPOTS IDENTIFICADOS NOS GÉIS BIDIMENSIONAIS DOS OVINOS SANTA INÊS E SOMALIS BRASILEIRA .....</b>	<b>64</b>
	<b>APÊNDICE B – ANÁLISE DE INTERAÇÃO PROTEÍNA- PROTEÍNA .....</b>	<b>121</b>



## 1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A exploração de pequenos ruminantes, especialmente de ovinos, e a agricultura itinerante, praticada em algumas regiões do semiárido nordestino, em sua maioria estão ligadas à reduzida produtividade e à escassa utilização de tecnologias, que combinadas inadequadamente, levam a processos de exaustão dos recursos naturais e desertificação. Complementando esse cenário, a maioria dos criatórios inseridos no Nordeste do Brasil são caracterizados como pequenas áreas de cunho familiar, onde a agricultura praticada no período chuvoso serve como alicerce para a criação de pequenos ruminantes no período seco.

Na necessidade de produzir e explorar dentro do contexto da sustentabilidade e na busca por elementos biológicos adequados às condições de solo-planta-animal-clima, o sistema de Integração Lavoura Pecuária - ILP apresenta-se como importante alternativa para a ovinocultura de corte praticada em regiões semiáridas, não só por elevar a capacidade de suporte das áreas de pastejo, mas por proporcionar a melhoria da qualidade de forragem disponível para os animais. Principalmente com a utilização de raças adaptadas ao ambiente criatório, associado a um sistema de produção que permita a melhoria dos índices produtivos.

Nesse contexto, dentre as raças ovinas exploradas no nordeste brasileiro, a Somalis Brasileira e a Santa Inês destacam-se entre as principais raças deslanadas adaptadas a essas condições de clima tropical. Caracterizando-se como raças de pequeno a médio porte, com boa taxa de fertilidade e boa produção de carne. Além de constituir um material genético de grande importância para a região.

A produção de ovinos de corte no Brasil tem se destacado como uma atividade sustentável devido ao aumento registrado na última década, da demanda por carne ovina, o que incentiva a entrada de novos investidores no setor. Dentre os atributos sensoriais, químicos e físicos da carne ovina, aspectos como maciez e aparência são as características mais elencadas pelos consumidores, o que está diretamente relacionado à qualidade do produto. Neste aspecto, diversas análises e processos biotecnológicos vêm sendo empregados com o objetivo de identificar as possíveis causas na variação dessa característica. No entanto, o entendimento torna-se difícil pelo fato que envolve inúmeros fatores.

O entendimento de processos fisiológicos e bioquímicos, relacionados a fisiologia do animal, envolvidos na qualidade da carne podem fornecer possíveis

biomarcadores para seleção de animais, geneticamente superiores. Nesse cenário, estudos identificaram proteínas como potenciais biomarcadores para a qualidade da carne em várias espécies que por sua vez, desempenham papéis importantes na bioquímica muscular. Pesquisas baseadas em espectrometria de massa ajudaram os cientistas a gerar mapas proteômicos detalhados de tecidos musculares de animais de criação e relataram proteínas relacionadas a atributos sensoriais, físicas e químicas da carne, como maciez, cor, pH, capacidade de retenção de água e força de cisalhamento, entre outros.

Apesar do notável conhecimento disponível sobre os perfis proteicos do tecido muscular de animais de criação, como bovinos, suínos e aves, há informações limitadas sobre o proteoma e a biologia muscular de ovinos, especialmente os adaptados às condições de semiárido.

## CAPÍTULO I

---

### **CARACTERÍSTICAS DA CARÇA DE BORREGOS DESLANADOS ADAPTADOS ÀS CONDIÇÕES TROPICAIS TERMINADOS EM SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA PECUÁRIA**

**CARACTERÍSTICAS DA CARÇA DE BORREGOS DESLANADOS  
ADAPTADOS AS CONDIÇÕES TROPICAIS TERMINADOS EM SISTEMA DE  
INTEGRAÇÃO LAVOURA PECUÁRIA**

**RESUMO**

A produção de ovinos de corte é conhecida como importante atividade econômica e social no Nordeste brasileiro, por garantir a fixação do homem no campo por meio da geração renda e contribuição com o desenvolvimento social, particularmente, de pequenos e médios produtores. Nesse sentido, o presente estudo avalia a influência da terminação de borregos Santa Inês e Somalis Brasileira em sistema de Integração Lavoura Pecuária por meio da avaliação *in vivo* e na carcaça. Foram utilizados 28 borregos (14 Santa Inês e 14 Somalis Brasileira), não castrados, com peso corporal médio inicial de  $18 \pm 3$  kg e 120 dias de idade, em delineamento inteiramente ao acaso. Os animais foram identificados, pesados, vermifugados e mantidos em uma área de um hectare, sob sistema de sequeiro, onde foram plantados: milho como componente agrícola e duas espécies forrageiras para pastejo, capim massai e cunhã, em sistema de Integração Lavoura Pecuária, além de serem suplementados com ração concentrada na proporção de 2% do peso corporal. A duração do experimento foi determinada pelo tempo necessário para que a média de peso corporal de um dos grupos experimentais atingisse 28 kg, momento em que todos os animais foram abatidos. Os maiores rendimentos de carcaça ( $P < 0,05$ ) foram observados nos borregos Somalis Brasileira (44,60%), enquanto a raça Santa Inês apresentou maior ( $P < 0,05$ ) perda de peso ao resfriamento (1,24%). Com relação aos cortes cárneos, foi observado maior ( $P < 0,05$ ) rendimento de pescoço (7,47%) nos borregos Santa Inês, enquanto o maior ( $P < 0,05$ ) rendimento de lombo posterior (6,89%), costelas (7,96%) e fraldinha (4,83%) nos Somalis Brasileira. A análise da composição tecidual indicou maior ( $P < 0,05$ ) proporção de tecido muscular (67,64%) e ósseo (20,75%) na raça Santa Inês, porém maior ( $P < 0,05$ ) percentual de gordura (22,97%) na Somalis Brasileira. Na análise de correlação de Pearson foi observada forte correlação entre a área de olho de lombo medida na carcaça e por ultrassonografia (0,81) e entre a espessura de gordura subcutânea na carcaça e por ultrassonografia, correlação moderada entre o peso de carcaça quente e área de olho de lombo na carcaça (0,56) e por ultrassonografia (0,55), o rendimento de carcaça quente e o índice de compacidade da carcaça (0,67) e espessura

de gordura subcutânea na carcaça (0,56). O estudo revelou que houve diferenças proeminentes entre as raças ovinas deslanadas Santa Inês e Somalis Brasileira quanto as características aferidas na carcaça. O sistema de terminação proposto permitiu que as raças pudessem expressar seu potencial genético para produção de carne em um menor tempo de terminação comparado a outros sistemas a pasto. Novos estudos na área foram encomendados envolvendo outras fases de criação, raças e/ou o cruzamento entre as raças trabalhadas para que se tenha o melhor de Santa Inês e Somalis Brasileira.

**Palavras-chave:** agropastoril; ovinos; produção; sustentabilidade.

## CHARACTERISTICS CARCASS OF LAMB WOOL LESS RAISED IN INTEGRATED CROOP-LIVESTOCK SYSTEM

### ABSTRACT

The production of beef sheep is known as an important economic and social activity in the Brazilian Northeast, as it guarantees the fixation of man in the field through income generation and contribution to social development, particularly for small and medium producers. In this sense, the present study evaluates the influence of finishing Santa Inês and Brazilian Somalis lambs in an Integrated Crop Livestock system through *in vivo* and carcass evaluation. A total of 28 lambs (14 Santa Inês and 14 Brazilian Somalis), not castrated, with a mean initial body weight of  $18 \pm 3$ kg and 120 days of age, were used in a completely randomized design. The animals were identified, weighed, dewormed and kept in an area of one hectare, under a rainfed system, where maize was planted as an agricultural component and two forage species for grazing, massai grass and cunhã, in an Integrated Crop Livestock system, in addition to be supplemented with concentrated feed in the proportion of 2% of body weight. The duration of the experiment was determined by the time required for the average body weight of one of the experimental groups to reach 28 kg, at which time all animals were slaughtered and, after slaughter. The highest carcass yields ( $P < 0.05$ ) were observed in Brazilian Somalis lambs (44.60%) compared to the Santa Inês breed (42.23%), which on the other hand showed higher ( $P < 0.05$ ) weight loss on cooling (1.24%). Regarding meat cuts, the highest ( $P < 0.05$ ) neck yield (7.47%) was observed in Santa Inês lambs, while the highest ( $P < 0.05$ ) hind loin yield (6.89%), ribs (7.96%) and flank steak (4.83%) in Brazilian Somalis. The analysis of tissue composition indicated a higher ( $P < 0.05$ ) proportion of muscle tissue (67.64%) and bone tissue (20.75%) in the Santa Inês breed, but a higher ( $P < 0.05$ ) percentage of fat (22.97%) in Brazilian Somalis. In Pearson correlation analysis, a strong correlation was observed between the loin eye area measured in the carcass and by ultrasonography (0.81) and between the thickness of subcutaneous fat in the carcass and by ultrasonography, a moderate correlation between hot carcass weight and loin eye area in the carcass (0.56) and by ultrasonography (0.55), the hot carcass yield and the carcass compactness index (0.67) and subcutaneous fat thickness in the carcass (0.56). The study revealed that there were prominent differences between the Santa Inês and Somalis Brasileira sheep breeds in terms of carcass

characteristics. The proposed finishing system allowed the breeds to express their genetic potential for meat production in a shorter finishing time compared to other pasture systems. We recommend further studies in the area involving other stages of creation, breeds and/or the crossing between the breeds worked on in order to have the best of Santa Inês and Brazilian Somalis.

**Keywords:** agropastoral; sheep; production; sustainability.

## 2.1. Introdução

A produção comercial de ovinos de corte tem ganho importância econômica no cenário do agronegócio brasileiro, pois tem representado uma significativa parcela na produção de carnes. Particularmente na região semiárida do Nordeste do Brasil, entre os produtos da ovinocultura que são comercializados, a carne é o principal (SANTOS et al. 2017) primeiro por suprir à população como uma proteína de origem animal de alto valor biológico a um menor preço quando comparadas com a carne de outros ruminantes (TORO-MUJICA et al., 2015) e por culturalmente está presente em diversos pratos culinários típicos da região (COSTA et al., 2011).

A maioria dos criatórios ovinos inseridos no semiárido brasileiro estão ligados ao uso de animais sem padrão racial definido, criados em sistemas de produção tipicamente conhecidos como precursores de desertificação e com o escasso uso de tecnologias (MORENO GARCIA et al., 2014). Esse tipo de exploração produz grande heterogeneidade no produto final, como a oferta de animais com baixa taxa de crescimento, animais com maior idade ao abate, e como consequência, carcaças sem padrão e baixa qualidade da carne (LOBO et al., 2018).

Na busca por produzir carne no contexto da sustentabilidade produtiva e ambiental, a escolha por elementos biológicos compatíveis com as condições de semiárido (solo-planta-animal-clima) tem sido determinante para o sucesso da atividade pecuária nessas regiões (SOUSA et al., 2015). Dentro desse cenário, a diversificação dos sistemas de produção com a integração lavoura pecuária – ILP tem sido proposta como uma tecnologia alternativa a produção agrícola e animal convencional (LEMAIRE et al., 2014). No entanto, técnicos e produtores devem considerar ao elaborarem esse modelo de produção à interação eficiente dos componentes vegetal e animal (CARVALHO et al., 2018) como a utilização de raças adaptadas associado a um sistema de produção de grãos e forragem que permita a melhoria dos índices produtivos.

Nesse aspecto, as características de carcaça, bem como a qualidade da carne ovina são resultado da interação entre o animal e o sistema de criação, de modo que os resultados obtidos no produto constituem importantes respostas para avaliar a eficiência de um sistema, em especial a fase de terminação (SOUSA et al., 2019). Nesse sentido, o estudo teve o objetivo de avaliar a qualidade da carne por meio da análise *in vivo* e *in situ* da carcaça de ovinos das raças Santa Inês e Somalis Brasileira, terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária no semiárido nordestino.



## 2.2. Material e Métodos

O experimento foi realizado sob o Protocolo nº 2017.01-014, conforme a Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, no Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovado pela comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte, Ceará, Brasil.

### 2.2.1. Local, animais e delineamento experimental

O estudo foi conduzido no centro de manejo para ovinos da Escola Agrícola Cenequista Francisca Cavalcanti Fialho, Tauá, Ceará, Brasil. O município situa-se em clima tropical semiárido quente e seco (KÖPPEN), a 402 m de altitude, 6° 00' 11'' de latitude sul e 40° 17' 34'' de longitude oeste, apresentando médias de amplitude de temperatura média 25,4 °C, umidade relativa do ar de 65% e a precipitação anual de 576 mm (FUNCEME, 2020).

Para o ensaio experimental foram utilizados 28 borregos (14 da raça Santa Inês - SI e 14 da raça Somalis Brasileira - SB), não castrados, com peso corporal médio inicial de 18,00 ± 3,00 kg e, aproximadamente 120 dias de idade. Os animais foram identificados, pesados, vermifugados e mantidos em uma área de um hectare, sob sistema de sequeiro, onde foram plantados milho (*Zea mays*) como componente agrícola e duas espécies forrageiras para pastejo, capim massai [*Megathyrsus maximus* cv. massai (*Sin. Panicum maximum*)] e cunhã (*Clitorea ternatea*), em sistema de Integração Lavoura Pecuária, além de serem suplementados com ração concentrada (73% milho grão moído, 23% farelo de soja, 1,2% núcleo mineral comercial, 1% cloreto de sódio, 1% de ureia e 0,8% calcário) na proporção de 2% do peso corporal, formulada segundo recomendações do NRC (2007) para ganho de peso médio diário de 200g. As amostras da ração concentrada, bem como do pasto, foram coletadas para determinação da composição químico-bromatológica (Tabela 01) conforme os métodos da AOAC (1990) para determinação do teor de matéria seca (MS; método 967.03), matéria mineral (MM; método 942.05), proteína bruta (PB; 981.18) e extrato etéreo (EE; método 920.29). Os teores de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN) e fibra insolúvel em detergente

ácido (FDA) foram determinados nas amostras segundo a metodologia proposta por Van Soest et al. (1991).

**Tabela 1.** Composição química (g kg<sup>-1</sup> MS) do pasto (pré-pastejo e pós-pastejo) e da ração concentrada utilizada na terminação de borregos deslanados adaptados às condições tropicais, terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária

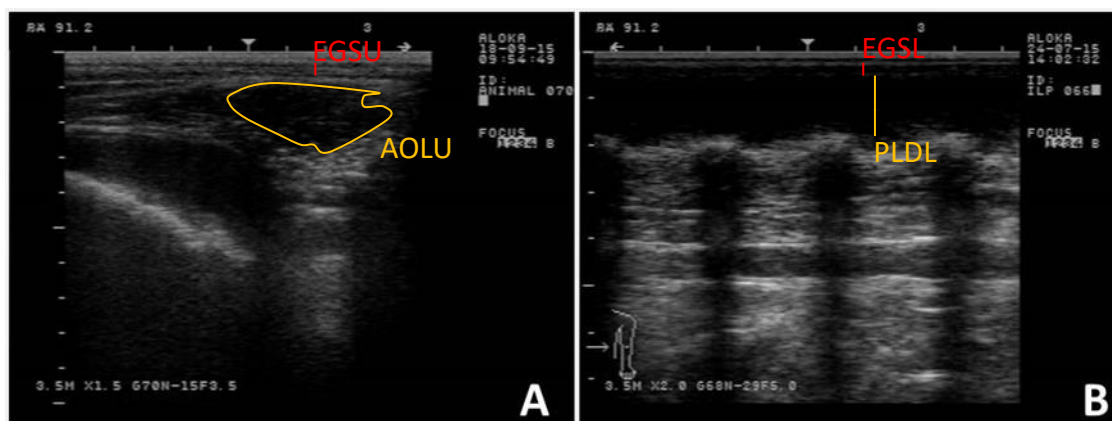
Nutriente	Pré-pastejo	Pós-Pastejo	Concentrado
Matéria seca	341,9	898,8	884,5
Matéria mineral	156,4	73,1	48,7
Proteína bruta	94,4	73,9	201,5
Extrato etéreo	17,2	10,2	42,8
FDN <sup>1</sup>	678,9	700,6	137,7
FDA <sup>2</sup>	440,1	435,9	55,9

\*Matéria seca calculada com base na matéria natural e os demais calculados com base na matéria seca. <sup>1</sup>Fibra insolúvel em detergente neutro; <sup>2</sup>Fibra insolúvel em detergente ácido.

### 2.2.2. Análise *in vivo* da carcaça por ultrassonografia

As avaliações *in vivo* na carcaça dos borregos foram realizadas por meio de ultrassonografia utilizando o equipamento da marca ALOKA 500, com sonda acústica linear de 11,5 cm e frequência de 3,5 MHz acoplado ao computador (Toshiba, modelo is1442). Para realização das análises *in vivo* por meio da ultrassonografia, os animais foram contidos sobre uma superfície plana e no lado esquerdo do animal foi realizada a tricotomia, limpeza da área e aplicação do gel condutor. Na mensuração da área de olho de lombo (AOLU) e espessura de gordura subcutânea (EGSU), o transdutor foi disposto de maneira perpendicular ao comprimento do músculo *Longissimus dorsi*, entre a 12<sup>a</sup> e a 13<sup>a</sup> costela (Figura 01 A); ao passo que nas mensurações da espessura de gordura subcutânea na lombar (EGSL) e da profundidade do *Longissimus dorsi* na lombar (PLDL), o transdutor foi disposto de maneira longitudinal, entre a 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> vértebras lombares (Figura 01 B), conforme Teixeira et al. (2006) e Ripoll et al. (2009). As avaliações foram realizadas no início (1<sup>o</sup> dia experimental), meio (30<sup>o</sup> dia experimental) e final (52<sup>o</sup> dia experimental), totalizando três mensurações. As imagens obtidas foram

analisadas utilizando-se o programa Image J (Image j, National Institute of Health, Millersville, USA).



**Figura 1.** Imagem ultrassonográfica para realização da avaliação da área de olho de lombo e da espessura de gordura subcutânea (1A) e da profundidade do *Longissimus dorsi* na lombar e espessura de gordura subcutânea na lombar (1B) em borregos deslançados localmente adaptados as condições tropicais, terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária

### 2.2.3. Abate, pesos e rendimentos da carcaça

A pesagem dos animais foi realizada semanalmente para ajuste da ração concentrada. A duração do experimento (53 dias) foi determinada pelo tempo necessário para que a média de peso corporal de um dos grupos experimentais atingisse 28 kg, momento em que todos os animais foram abatidos. Para o abate, os borregos foram submetidos a jejum de alimentos sólidos e hídrico de 16 e 12h, respectivamente, e novamente pesados para obtenção do peso corporal ao abate (PCA). A perda de peso por jejum (PJ) foi obtida pela seguinte fórmula:  $PJ (\%) = (PC / PCA) \times 100$ .

Como procedimento de abate, foi efetuada a insensibilização dos animais, por atordoamento, na região atla-occipital, seguido por sangria pela secção da carótida e jugular. Para obtenção do peso de corpo vazio (PCVZ), do PCA foram subtraídos os pesos referentes ao conteúdo do trato gastrointestinal (CTGI), bexiga (B) e vesícula biliar (VB), onde  $PCVZ = PCA - (CTGI + B + VB)$ . A carcaça (corpo do animal abatido, sangrado, esfolado, eviscerado, desprovido de cabeça, patas, cauda e sistema reprodutor) foi então pesada, obtendo-se o peso de carcaça quente (PCQ), possibilitando

o cálculo do rendimento de carcaça quente (RCQ), pela seguinte fórmula  $RCQ (\%) = (PCQ/PCA) \times 100$ . As carcaças foram armazenadas em câmara fria a 4°C, onde permaneceram por 24 horas, quando, foram novamente pesadas obtendo-se o peso de carcaça fria (PCF) e o rendimento de carcaça fria (RCF) foi obtido pela seguinte fórmula  $RCF (\%) = (PCF/PCA) \times 100$ . A perda por resfriamento (PPR) foi calculada pela seguinte fórmula:  $PR (\%) = [(PCQ - PCF) / PCQ] \times 100$  e o rendimento biológico (RB) foi calculado como:  $RB (\%) = (PCQ/PCVZ) \times 100$ , conforme Silva Sobrinho (2001).

A obtenção dos cortes cárneos foi realizada conforme os seguintes procedimentos: as carcaças foram divididas por corte longitudinal, em seguida, a meia carcaça esquerda foi subdividida em oito regiões anatômicas (paleta, perna, lombo anterior, lombo posterior, costela, pescoço, peito e fraldinha), as quais foram pesadas individualmente para obtenção do peso do corte (MONTE, 2007). O rendimento de cada corte foi calculado em relação ao peso da meia carcaça esquerda (PMCE), no qual, o peso do corte cárneo (%) = (peso do corte em kg / PMCE) x 100.

#### ***2.2.4. Mensurações na carcaça, obtenção dos índices de musculosidade e espessura de gordura subcutânea***

O comprimento interno da carcaça (CIC) e de perna (CP), largura da garupa (LG) foram mensurados de acordo com metodologia adotada por Cezar e Sousa (2007). Os índices de compacidade da carcaça (ICC) e da perna (ICP), esses foram determinados utilizando as fórmulas:  $ICC = PCF/CIC$  e  $ICP = LG/CP$ , respectivamente, conforme Cezar e Sousa (2007). Ainda como medida de avaliação do estado de musculosidade da carcaça, foi realizada a mensuração da área de olho de lombo na carcaça (AOLC). Para isso, foi efetuado um corte transversal entre a 12 e a 13ª costelas, na meia carcaça esquerda, para exposição da área do músculo *Longissimus dorsi*. Em seguida, o contorno do músculo, foi traçado em películas de plástico transparente, seguindo metodologia proposta por Müller (1987). Após a obtenção do desenho, com auxílio de uma régua, foram traçadas duas retas sobre a imagem do músculo, uma medindo a distância máxima do *Longissimus dorsi* no sentido médio lateral (medida A) e outra perpendicular à anterior (medida B), conforme metodologia descrita por Cezar e Sousa (2007). Realizados os referidos procedimentos, as medidas foram inseridas na seguinte fórmula:  $AOLC (cm^2) = (medida A/2 \times medida B/2) \times 3,1416$ .

A espessura de gordura subcutânea na carcaça (EGSC) foi mensurada com o auxílio de um paquímetro digital na região do músculo *Longissimus dorsi* conforme metodologia descrita por Cezar e Sousa (2007).

### **2.2.5. Composição tecidual do pernil**

Para determinação da composição tecidual do pernil, o pernil esquerdo de todos os borregos foi reservado e dissecado. A separação dos tecidos em gordura subcutânea, gordura intermuscular, músculo e ossos foi procedida com auxílio de um bisturi e após a separação dos componentes, cada tecido foi pesado individualmente e expressos em porcentagem, em relação ao respectivo peso do pernil inteiro, segundo a metodologia adaptada de Pinheiro et al. (2007). Não foram considerados, neste estudo, o peso dos tendões, vasos sanguíneos e tecidos conjuntivos.

### **2.2.6. Análise estatística**

Todas as variáveis foram submetidas ao teste de normalidade Shapiro-Wilk, para verificar se possuem distribuição normal e em seguida, por intermédio do programa SISVAR®, foram submetidas à análise de variância entre os grupos experimentais Santa Inês e Somalis Brasileira, segundo Ferreira (2007). A variável espessura de gordura subcutânea na carcaça foi transformada para  $\log^{+10}$ , com o objetivo de apresentar normalidade.

As médias foram comparadas pelo de Tukey a 5% de significância para as variáveis que apresentaram normalidade e pelo teste Mann-Whitney para a variável espessura de gordura subcutânea na carcaça (EGSC). Foram realizados estudos das correlações simples de Pearson com as duas raças, para avaliar o grau de associação entre as características *in vivo* (AOLU e EGSU) e as características obtidas na carcaça (AOLC, EGSC, PCQ, RCQ, ICC e ICP) das duas raças estudadas.

## **2.3. Resultados**

Constatou-se com as avaliações *in vivo* da carcaça por meio da ultrassonografia que ocorreu um aumento gradativo da área de olho de lombo (AOLU), espessura de gordura subcutânea (EGSU), espessura de gordura subcutânea na lombar (EGSL) e

profundidade do *Longissimus dorsi* na lombar (PLDL) entre as avaliações (1°, 30° e 52° dia experimental), havendo similaridade entre as raças avaliadas ( $P>0,05$ ) para essas variáveis (Tabela 2).

**Tabela 2.** Medidas por ultrassonografia da área de olho de lombo (AOLU), espessura de gordura subcutânea (EGSU), profundidade do *Longissimus dorsi* na lombar (PLDL) e espessura de gordura subcutânea na lombar (EGSL) de borregos deslanados adaptados às condições tropicais, terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária.

Item	Dia	Santa Inês	Somalis Brasileira	Valor-P*
AOLU (cm <sup>2</sup> )	1°	12,56 ± 1,36	11,85 ± 1,76	0,25
AOLU (cm <sup>2</sup> )	30°	14,49 ± 1,30	14,10 ± 1,88	0,54
AOLU (cm <sup>2</sup> )	52°	16,81 ± 1,40	15,98 ± 1,92	0,21
EGSU (mm)	1°	02,50 ± 1,02	02,89 ± 1,93	0,51
EGSU (mm)	30°	03,05 ± 1,09	03,56 ± 1,91	0,39
EGSU (mm)	52°	03,54 ± 1,03	04,03 ± 1,96	0,42
PLDL (cm)	1°	12,98 ± 1,67	13,42 ± 2,30	0,18
PLDL (cm)	30°	13,71 ± 1,60	14,11 ± 2,39	0,53
PLDL (cm)	52°	14,62 ± 1,55	15,05 ± 2,42	0,74
EGSL (mm)	1°	01,68 ± 0,37	02,18 ± 1,29	0,57
EGSL (mm)	30°	02,86 ± 0,53	03,15 ± 1,61	0,68
EGSL (mm)	52°	03,90 ± 0,84	04,09 ± 1,96	0,59

Não houve diferença ( $P>0,05$ ; Tabela 03) para o peso corporal ao abate (PCA), peso de carcaça quente (PCQ), peso de carcaça fria (PCF) e área de olho de lombo na carcaça (AOLC) entre as raças estudadas. Entretanto o rendimento de carcaça quente (RCQ), fria (RCF) e biológico (RB) foram superiores ( $P<0,05$ ; Tabela 3) para os ovinos Somalis Brasileira, enquanto a perda de peso por resfriamento (PPR) foi maior ( $P<0,05$ ; Tabela 3) na raça Santa Inês. Para o índice de compacidade da carcaça (ICC), índice de compacidade da perna (ICP) e espessura de gordura subcutânea na carcaça (EGSC) foram observados maiores valores ( $P<0,05$ ; Tabela 3) para os borregos Somalis Brasileira(Tabela 3).

**Tabela 3.** Características da carcaça de borregos deslanados adaptados às condições tropicais, terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária

Item	Santa Inês	Somalis Brasileira	Valor-P <sup>1</sup>
PCA (kg) <sup>2</sup>	28,66 ± 2,23	27,79 ± 2,78	0,37
PCQ (kg) <sup>3</sup>	12,08 ± 0,83	12,40 ± 1,52	0,50
PCF (kg) <sup>4</sup>	11,93 ± 0,83	12,30 ± 1,50	0,43
RCQ (%) <sup>5</sup>	42,23 ± 1,90 <sup>b</sup>	44,60 ± 2,20 <sup>a</sup>	0,01
RCF (%) <sup>6</sup>	41,71 ± 1,87 <sup>b</sup>	44,23 ± 2,17 <sup>a</sup>	0,01
RB (%) <sup>7</sup>	50,29 ± 1,81 <sup>b</sup>	53,27 ± 3,14 <sup>a</sup>	0,01
PPR (%) <sup>8</sup>	1,24 ± 0,18 <sup>a</sup>	00,83 ± 0,23 <sup>b</sup>	<0,0001
ICC <sup>9</sup>	0,21 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,23 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,01
ICP <sup>10</sup>	0,37 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,41 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,01
AOLC (cm <sup>2</sup> ) <sup>11</sup>	12,18 ± 1,50	12,33 ± 2,20	0,85
EGSC (mm) <sup>12</sup>	1,38 ± 0,72 <sup>b</sup>	2,54 ± 1,59 <sup>a</sup>	0,02

<sup>1</sup>Valores na mesma linha, seguidos de letras diferentes, diferem pelo teste de Tukey a 5% de significância; <sup>2</sup>Peso corporal ao abate; <sup>3</sup>Peso de carcaça quente; <sup>4</sup>Peso de carcaça fria; <sup>5</sup>Rendimento de carcaça quente; <sup>6</sup>Rendimento de carcaça fria; <sup>7</sup>Rendimento biológico; <sup>8</sup>Perda de peso por resfriamento; <sup>9</sup>Índice de compacidade da carcaça; <sup>10</sup>Índice de compacidade da perna; <sup>11</sup>Área de olho de lombo na carcaça; <sup>12</sup>Espessura de gordura subcutânea na carcaça.

Não foi observada diferença ( $P>0,05$ ) para o rendimento de paleta, peito, perna e lombo anterior (Tabela 4). Porém os borregos da raça Somalis Brasileira apresentaram maior ( $P<0,05$ ) rendimento de lombo posterior, costelas e fraldinha e menor rendimento de pescoço, quando comparados aos animais da raça Santa Inês.

**Tabela 4.** Rendimentos dos cortes cárneos da carcaça de borregos deslanados adaptados às condições tropicais, terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária

Item	Santa Inês	Somalis Brasileira	Valor-P*
Paleta (%)	18,60 ± 1,15	17,09 ± 1,32	0,01
Peito (%)	7,43 ± 0,97	7,96 ± 0,82	0,14
Perna (%)	35,66 ± 1,28	33,58 ± 4,21	0,09
Lombo anterior (%)	13,52 ± 1,29	13,91 ± 1,81	0,53
Lombo posterior (%)	5,72 ± 0,93 <sup>b</sup>	6,89 ± 1,04 <sup>a</sup>	0,01
Costelas (%)	7,28 ± 0,52 <sup>b</sup>	7,96 ± 0,82 <sup>a</sup>	0,01
Fraldinha (%)	4,04 ± 0,62 <sup>b</sup>	4,83 ± 0,91 <sup>a</sup>	0,01
Pescoço (%)	7,47 ± 0,73 <sup>a</sup>	6,08 ± 0,64 <sup>b</sup>	<0,0001

\*Valores na mesma linha, seguidos de letras diferentes, diferem pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A proporção de tecido muscular e ósseo foi maior ( $P < 0,05$ ) para os animais Santa Inês, no entanto os borregos Somalis Brasileira tiveram maior ( $P < 0,05$ ) proporção de gordura na composição tecidual do pernil (Tabela 5).

**Tabela 5.** Composição tecidual do pernil de borregos deslanados adaptados às condições tropicais, terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária

Item	Santa Inês	Somalis Brasileira	Valor-P*
Músculo total (kg)	01,41 ± 0,14 <sup>a</sup>	01,26 ± 0,18 <sup>b</sup>	0,03
Músculo total (%)	67,64 ± 3,06 <sup>a</sup>	60,03 ± 4,64 <sup>b</sup>	<0,0001
Ossos total (kg)	00,43 ± 0,03 <sup>a</sup>	00,36 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,01
Ossos total (%)	20,75 ± 2,09 <sup>a</sup>	17,11 ± 2,01 <sup>b</sup>	0,01
Gordura total (kg)	00,24 ± 0,06 <sup>b</sup>	00,48 ± 0,17 <sup>a</sup>	<0,0001
Gordura total (%)	11,60 ± 2,78 <sup>b</sup>	22,97 ± 6,19 <sup>a</sup>	<0,0001

\*Valores na mesma linha, seguidos de letras diferentes, diferem pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Foram estimados coeficientes de correlação de Pearson para as características analisadas por ultrassonografia com as medidas realizadas na carcaça. Correlações significativas foram estimadas para a maioria das variáveis, no entanto, somente algumas foram de média a alta magnitude (Tabela 6). O peso de carcaça quente (PCQ)



apresentou baixa correlação com o rendimento de carcaça quente (RCQ), índice de compacidade de perna (ICP) e a espessura de gordura subcutânea na carcaça (EGSC), moderada com a área de olho de lombo na carcaça (AOLC) e por ultrassonografia (AOLU) e espessura de gordura subcutânea por ultrassonografia (EGSU). O RCQ demonstrou correlação baixa com o ICP e moderada com o ICC e EGSC, no entanto correlação muito baixa com as demais variáveis. Observou-se baixa correlação do ICC com a AOLC e AOLU, porém moderada com ICP, EGSC e EGSU. Quanto ao ICP foi observada correlação muito baixa com AOLC e AOLU e moderada com EGSC e EGSU. Foi observada alta correlação entre a AOLC e a AOLU, no entanto correlação muito baixa com EGSC e EGSU. Houve uma correlação muito alta entre a EGSC e a EGSU.

**Tabela 6.** Coeficiente de correlação simples de Pearson e (p-values) entre as avaliações *in vivo* por ultrassonografia e as características da carcaça de borregos deslanados das raças Somalis Brasileira e Santa Inês adaptados às condições tropicais, terminados em sistema de Integração Lavoura Pecuária.

Item	RCQ	ICC	ICP	AOLC	AOLU	EGSC	EGSU
PCQ <sup>1</sup>	0,42 (0,28)	0,86 (0,01)	0,44 (0,02)	0,56 (0,01)	0,55 (0,01)	0,50 (0,01)	0,50 (0,01)
RCQ <sup>2</sup>	-	0,67 (0,01)	0,35 (0,08)	0,18 (0,37)	0,24 (0,01)	0,56 (0,01)	0,29 (0,02)
ICC <sup>3</sup>	-	-	0,68 (0,01)	0,41 (0,03)	0,36 (0,01)	0,68 (0,01)	0,55 (0,01)
ICP <sup>4</sup>	-	-	-	0,22 (0,28)	0,06 (0,01)	0,57 (0,01)	0,52 (0,02)
AOLC <sup>5</sup>	-	-	-	-	0,81 (0,01)	0,05 (0,82)	0,06 (0,78)
AOLU <sup>6</sup>	-	-	-	-	-	0,05 (0,80)	0,09 (0,64)
EGSC <sup>7</sup>	-	-	-	-	-	-	0,91 (0,01)
EGSU <sup>8</sup>	-	-	-	-	-	-	-

<sup>1</sup>Peso de carcaça quente; <sup>2</sup>Rendimento de carcaça quente; <sup>3</sup>Índice de compacidade da carcaça; <sup>4</sup>Índice de compacidade da perna; <sup>5</sup>Área de olho de lombo na carcaça; <sup>6</sup>Área de olho de lombo por ultrassonografia; <sup>7</sup>Espessura de gordura subcutânea na carcaça; <sup>8</sup>Espessura de gordura subcutânea por ultrassonografia.

## 2.4. Discussão

Todos os animais experimentais iniciaram o período de terminação, que se estendeu por 53 dias, com peso vivo inicial de aproximadamente 18 kg. O sistema de terminação, proposto no nosso estudo permitiu o atendimento satisfatório das características de carcaça como peso ao abate, rendimentos de carcaça e de cortes cárneos, composição tecidual do pernil, espessura de gordura subcutânea e índices de musculosidade de borregos deslanados das raças Santa Inês e Somalis Brasileira.

No estudo a ultrassonografia como ferramenta utilizada para acompanhar a condição corporal dos borregos em tempo real antes do abate apresentou-se como um método não invasivo eficaz quando utilizada para avaliar características como a espessura de gordura subcutânea e a área de olho de lombo sendo facilmente mensuradas entre a 12<sup>a</sup> e 13<sup>a</sup> costelas. No entanto, seu uso nesse estudo teve limitações devido as especificidades das raças como a necessidade da raspagem dos pelos na área a ser avaliada, por exemplo, além disso não deve ser utilizada como única forma de mensuração e estimativa tecidual da carcaça de borregos, pois não apresentou boa correlação com os cortes cárneos, entre outras medidas. Nesse sentido, consideramos que a realização de medidas in vivo e na carcaça em diferentes partes do corpo do animal poderiam gerar modelos mais precisos para prever a composição tecidual de borregos em crescimento.

O PCA manteve-se dentro do preconizado no início do período experimental, onde as duas raças alcançaram 28 kg aos 53 dias experimentais (170 dias de idade), pode demonstrar a eficiência do sistema de terminação para o ganho de peso dos animais. Embora os valores para os RCQ (42,23 e 44,60%), RCF (41,71 e 44,23%) e RB (50,29 e 53,27%), respectivamente para os borregos da raça Santa Inês e Somalis Brasileira, tenham sido diferentes estatisticamente, estão de acordo com aqueles relatados na literatura para borregos desses genótipos, abatidos com pesos semelhantes ao do estudo (28 kg). O rendimento de carcaça pode variar de acordo com fatores

extrínsecos e intrínsecos ao animal, podendo apresentar uma amplitude no valor do mesmo. Entre as raças estudadas, a Somalis Brasileira apresentou 5,7% de rendimento de carcaça quente e biológico e 5,3% de rendimento de carcaça fria a mais que a raça Santa Inês, esses animais pertence ao grupo de ovinos de “garupa gorda” e destacam-se pela eficiência de produção em clima semiárido (SOUSA et al., 2015), possivelmente esses borregos tiveram menor dispersão de energia para manutenção e maior sobra energética para deposição tecidual na carcaça. Outro fator que está diretamente relacionado ao rendimento da carcaça é o rendimento do dos componentes não carcaça (MCMANUS et al., 2010), uma vez que é calculado pela subtração do peso corporal ao abate pelos componente não carcaça. Provavelmente, por se tratar de duas raças com portes diferenciados como a Santa Inês (grande porte) e Somalis Brasileira (médio porte) houve uma maior participação desses componentes não carcaça como pele, cabeça, trato digestório para os ovinos Santa Inês. Os valores constatados para o rendimento biológico ou verdadeiro da carcaça dos borregos Somalis Brasileira e Santa Inês podem ser considerados ótimos do ponto de vista comercial (QUEIROZ et al., 2015).

A variação de 49,4% a menos de perda de peso da carcaça dos borregos Somalis Brasileira após o resfriamento, provavelmente deve-se a maior EGS (2,54 mm) na carcaça desses animais (Tabela 03). Essa variável está inversamente proporcional à espessura de gordura subcutânea uma vez que essa última exerce função protetora, atuando como isolante térmico e conseqüentemente evitando perdas provenientes por processos de desidratação durante o armazenamento e refrigeração de carcaça (OLIVEIRA et al., 2014). Além disso, essa medida é importante para compreensão da necessidade de um grau de gordura de cobertura mínimo para garantir a redução de perdas na carcaça (SILVA FILHO et al., 2021). No estudo, obtivemos perda de peso por resfriamento inferior a 1,24%, o que é um ótimo resultado, uma vez que perdas de peso acentuadas geram grandes prejuízos econômicos aos produtores. Esse valor foi inferior aos reportados por Queiroz et al. (2015) avaliando ovinos Santa Inês abatidos com diferentes EGS (2, 3 e 4 mm), que relataram valores entre 1,73 e 3,13% e aos de Oliveira et al., (2014) que encontraram média de 3,7% de PPR trabalhando com as mesmas raças em confinamento.

No presente estudo, a área de olho de lombo dos borregos apresentou resultados satisfatórios, com valores superiores a 12,18 cm<sup>2</sup>, sendo uma medida importante quando aferida entre a 12<sup>a</sup> e 13<sup>a</sup> costelas, para estimar a distribuição de tecido muscular

na carcaça (GOMES et al., 2021). Ainda como forma de avaliação de musculosidade o índice de compacidade de carcaça e de perna foram aferidos, sendo os maiores valores observados para os animais Somalis Brasileira o que pode ser um bom indicativo da capacidade da raça em depositar músculo na carcaça em situações de terminação a pasto, além disso as diferenças observadas entre as raças podem estar relacionadas ao genótipo e a particularidade de desenvolvimento tecidual de cada raça. Os animais das raças estudadas, quando adultos, possuem pesos distintos e em condições iguais de manejo sanitário e aporte nutricional, será o genótipo que irá exercer influência nas características da carcaça. A maior camada de gordura subcutânea (2,54 mm) e os maiores índices de compacidade de carcaça (0,23) e perna (0,41) à mesma idade podem ser indicativos de maior precocidade dos borregos Somalis Brasileira em comparação aos borregos Santa Inês.

A diferença observada para o rendimento dos cortes cárneos como o lombo posterior, costela, fraldinha e pescoço entre as raças do estudo, podem ser explicadas, possivelmente, pela particularidade de cada corte e anatomia das raças. Cortes cárneos como a costela e o lombo possuem desenvolvimento tardio e tende a ter deposição de gordura mais acentuada. As duas raças avaliadas possuem velocidades de crescimento distintas e conseqüentemente o rendimento desses cortes foi influenciado. (CLEMENTINO et al., 2007; ARAÚJO FILHO et al., 2010).

Os resultados evidenciaram maior rendimento de pescoço para os borregos da raça Santa Inês, essa diferença se deve os parâmetros anatômicos de cada raça.

Dentre os componentes teciduais avaliados no pernil, a gordura foi a que apresentou maior variação, sendo, nos animais Somalis Brasileira, cerca de 100% a mais em comparação aos Santa Inês, o qual, apresentou 12% a mais de músculo. Avaliando as relações músculo:gordura (5,87 e 2,63) e osso:gordura (1,79 e 0,75), respectivamente para a raça SI e SB, podemos observar que à medida que a proporção de gordura na carcaça aumenta, a proporção de músculo e osso diminui (Tabela 05). As raças estudadas possuem estruturas corporais diferenciadas, sendo a Santa Inês com maior alongamento ósseo e elevada capacidade de deposição de tecido muscular, enquanto a Somalis Brasileira apresenta estrutura corporal mais compacta com maior capacidade para deposição de gordura na carcaça (SILVA SOBRINHO et al., 2005).

Os tecidos corporais possuem velocidades de crescimento diferentes, sendo o ósseo mais precoce, o muscular intermediário e o adiposo mais tardio, e o desenvolvimento está de acordo com a maturidade fisiológica do animal (SOUSA et al.,

2019). Por tanto, o tecido ósseo encontra-se totalmente desenvolvido nos primeiros meses de vida do animal, seguindo-se da deposição e hipertrofia muscular e finalmente pela camada adiposa. No estudo, ao avaliar a composição tecidual do pernil, foi observado maiores proporções de tecido muscular e ósseo no Santa Inês, possivelmente esses animais possuem velocidade de crescimento diferente dos borregos Somalis Brasileira, o qual teve o dobro de tecido adiposo no pernil. Neste aspecto, observando a EGS, os índices de musculosidade (Tabela 03) e o percentual de gordura na carcaça (Tabela 5) das raças avaliadas, observa-se que os borregos Somalis Brasileira, provavelmente sejam mais precoces e hipoteticamente possuem peso de abate diferente dos borregos Santa Inês.

As características altamente associadas foram o PCQ com o ICC (0,856), indicando que quanto maior o peso de carcaça quente, maior a proporção de músculo, uma vez que o índice de compacidade da carcaça pode ser utilizado como uma medida para avaliar a conformação da mesma. Ainda como características altamente associadas tiveram a AOLC com a AOLU (0,812) e EGSC com a EGSU (0,908), o que é interessante para deduzir a ultrassonografia como um método não invasivo para análise in vivo da estimativa da composição tecidual de borregos a campo. No entanto faz necessário a realização de outras medidas para melhor correlação.

## **2.5. Conclusão**

A raça interfere nas características aferidas na carcaça, com a Somalis Brasileira apresentando melhor rendimento de carcaça e cortes cárneos, índice de musculosidade e espessura de gordura subcutânea, além de menor perda de peso ao resfriamento. A raça Santa Inês predispõe de maiores proporções de músculo na sua composição tecidual do pernil e rendimento de pescoço. O sistema de terminação proposto permitiu que as raças pudessem expressar seu potencial genético para produção de carne em um menor tempo de terminação comparado a outros sistemas a pasto. Assim, É recomendado novos estudos na área envolvendo outras fases de criação, raças e/ou o cruzamento entre as raças trabalhadas para que se tenha o melhor de Santa Inês e Somalis Brasileira.

## CAPÍTULO II

---

**PERFIL PROTEÔMICO DO MÚSCULO *Longissimus thoracis* DE BORREGOS  
DE RAÇAS LOCALMENTE ADAPTADAS AO SEMIÁRIDO BRASILEIRO**

**PROTEOMIC PROFILE OF *Longissimus thoracis* MUSCLE FROM LAMBS OF  
LOCALLY ADAPTED BREEDS OF THE BRAZILIAN SEMIARID REGION**

Nielyson J. M. Batista, João Paulo A. Rêgo, Patrícia G. Pimentel, Ana Sancha M.  
Batista, Thyarlon B. C. Lima, Denise D. Guerreiro, Celso S. Nagano, Fábio R.  
Vasconcelos, Arlindo A. Moura

## PERFIL PROTEÔMICO DO MÚSCULO *Longissimus thoracis* DE BORREGOS DE RAÇAS LOCALMENTE ADAPTADAS AO SEMIÁRIDO BRASILEIRO

### RESUMO

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de descrever o perfil proteico do músculo *Longissimus thoracis* de borregos deslanados adaptados às condições tropicais. Foram utilizadas 20 amostras de *Longissimus thoracis* de borregos Santa Inês e Somalis Brasileira, machos, não castrados, abatidos com aproximadamente 175 dias e peso corporal de  $28 \pm 2$  Kg. Após a extração de proteínas do músculo, essas foram separadas por eletroforese bidimensional e identificadas por espectrometria de massa. Em média, um total de 126 spots no gel do Somalis Brasileira e 123 spots no gel da raça Santa Inês foram identificados por espectrometria de massa, correspondendo a 39 e 51 diferentes proteínas, respectivamente. O grupo de proteínas com maior abundância nos mapas proteicos das duas raças estudadas correspondem a proteínas estruturais. Proteínas associadas ao metabolismo energético, organização celular, estresse oxidativo também foram identificadas nos mapas proteicos. Descrevemos o proteoma de *Longissimus thoracis* de duas das mais importantes raças de ovinos adaptadas localmente no semiárido brasileiro, Somalis e Santa Inês, criadas em sistema de integração lavoura-pecuária sustentável. As análises resultaram na identificação de proteínas associadas a eventos fisiológicos e bioquímicos potencialmente envolvidos com a qualidade da carne em ovinos. Os resultados do presente estudo abrem novas perspectivas para futuras pesquisas focadas na identificação de biomarcadores moleculares relacionados à qualidade da carne de cordeiros deslanados criados em regiões tropicais.

**Palavras-chave:** *Longissimus dorsi*; ovinos; proteômica; qualidade da carne.

**PROTEOMIC PROFILE OF *Longissimus thoracis* MUSCLE FROM LAMBS OF  
LOCALLY ADAPTED BREEDS OF THE BRAZILIAN SEMIARID REGION**

**ABSTRACT**

The quality sheep meat is reported as a complex characteristic and has been hard to measure. Study of physiological and molecular processes involved with meat quality can elucidate factors and biomarkers that influence this characteristic. This study describes the muscle *Longissimus thoracis* protein profile of hairless lambs adapted to tropical conditions. 20 samples of *Longissimus thoracis* of lambs Santa Inês and Brazilian Somalis, males, not castrated, slaughtered at approximately 175 days and body weight of  $28 \pm 2\text{Kg}$  were used. After extraction, proteins were separated by two-dimensional electrophoresis and identified by mass spectrometry. On average, a total of 126 spots on the Brazilian Somalis gel and 123 spots on the Santa Inês gel were identified by mass spectrometry, corresponding to 39 and 51 different proteins, respectively. Structural proteins were present in greater abundance in the protein map of the two races. Proteins associated with energy metabolism, cell organization and oxidative stress were also identified. We describe the proteome of *Longissimus thoracis* from two of the most important locally-adapted breeds of sheep in semiarid Brazil, the Somalis and Santa Inês, raised in a sustainable integration crop livestock system. Analysis resulted in the identification of proteins associated with physiological and biochemical events potentially involved with meat quality in sheep. The results of the present study open new perspectives for future research focused on the identification of molecular biomarkers related to meat quality of hair lambs raised in tropical regions.

**Keywords:** *Longissimus dorsi*; meat quality; proteomics; sheep.



### 3.1. Introdução

A produção de cortes padronizados de carne ovina com alto valor e qualidade é um dos desafios atuais da cadeia produtiva de ovinos em regiões tropicais. A qualidade da carne influencia a decisão de compra do consumidor, sendo uma característica complexa e determinada por diversos fatores (GAGAOUA et al., 2019), incluindo nutrição, condição de saúde, idade, estado fisiológico e raça dos animais, bem como condições do sistema de produção (LOMIWES et al., 2014; PICARD et al., 2018). Além desses aspectos, as propriedades estruturais do músculo e os processos bioquímicos que ocorrem durante a conversão do músculo em carne (*rigor mortis*) ou durante o armazenamento do produto, afetam significativamente a qualidade da carne (SHENG et al., 2021). Essa variedade de fatores explica porque a qualidade da carne é tão variável e difícil de prever, apesar de inúmeros estudos e pesquisas (GAGAOUA et al., 2019).

O conhecimento da fisiologia animal e dos eventos bioquímicos envolvidos nos tecidos musculares auxiliam definitivamente os programas de melhoramento genético e a descoberta de potenciais biomarcadores para qualidade da carne. De fato, estudos identificaram proteínas como biomarcadores para a qualidade da carne em várias espécies. As proteínas, como se sabe, desempenham papéis importantes nas reações bioquímicas e nas redes moleculares do tecido muscular (SHENG et al., 2021), como regulação da glicólise, contração muscular e vias metabólicas durante a transformação do músculo em carne (CHEN et al., 2016). Protocolos baseados em espectrometria de massa ajudaram os cientistas a gerar mapas proteômicos detalhados de tecidos musculares de bovinos (RODRIGUES et al., 2017), suínos (CARLSON et al., 2017) e aves (CAI et al., 2018) e relatar proteínas como biomarcadores relacionados a atributos sensoriais da carne, como maciez, cor, pH, capacidade de retenção de água e força de cisalhamento, entre outros.

Os achados de estudos de “ômica” também são ferramentas importantes para avaliar como as proteínas influenciam os aspectos qualitativos da carne (SCHILLING et al., 2017). Apesar do notável conhecimento disponível sobre os perfis proteicos do tecido muscular em outros animais de produção como bovinos, suínos e aves, há informações limitadas sobre o proteoma e a biologia muscular de ovinos, especialmente nas raças de ovinos deslanados, adaptados localmente. Assim, o presente estudo foi conduzido para caracterizar o perfil proteico no músculo *Longissimus thoracis* de

borregos Somalis Brasileira e Santa Inês criados em uma região semiárida do Nordeste brasileiro.

### **3.2. Material e Métodos**

O experimento foi realizado sob o Protocolo nº 2017.01-014, conforme a Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, no Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovado pela comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Estácio de Juazeiro do Norte, Ceará, Brasil.

#### **3.2.1. Animais Experimentais**

Para o estudo proteômico foram utilizadas vinte amostras do músculo *Longissimus thoracis* de borregos deslanados, sendo 10 da raça Somalis Brasileira (SB) e 10 da raça Santa Inês (SI), não castrados, abatidos com aproximadamente 175 dias de idade e peso médio  $28 \pm 2$  kg.

Os animais foram identificados e mantidos em um hectare de área definida como sistema de Integração Lavoura Pecuária. Esta área continha plantas de milho (*Zea mays*) e duas espécies forrageiras, capim massai [*Megathyrsus maximus* cv. Massai (Sin. *Panicum maximum*)] e cunhã (*Clitorea ternatea*). Os animais foram mantidos em pastejo livre nessa área durante o experimento e suplementados diariamente (2% do peso corporal) com concentrado (73% milho, 23% farelo de soja, 1,2% núcleo mineral, 1,8% cloreto de sódio e 1% uréia). As lavouras foram estabelecidas no início da estação chuvosa, iniciando com o milho e, após a germinação, seguido do plantio de capim massai e cunhã, com espaçamento de 0,4 m entre linhas de milho, 1,0 m para capim massai e 0,3 m para cunhã. As lavouras foram dispostas de forma alternada entre as fileiras de massai e cunhã. As dietas foram fornecidas aos carneiros para permitir um ganho de peso médio diário de 200 g (NRC, 2007).

O estudo foi realizado no município de Tauá, estado do Ceará, Brasil (6° 00' 11'' S, 40° 17' 34'' W; 402 m do nível do mar). A região possui clima tropical semiárido (<https://www.britannica.com/science/Koppen-climate-classification>) com

temperatura média de 25,4 °C, umidade do ar de 65% e precipitação anual de 576 mm (FUNCEME, 2020).

### 3.2.2. Coleta e processamento de amostra

A duração do experimento foi limitada pelo tempo necessário para que um dos grupos experimentais, Somalis Brasileira e Santa Inês, atingisse 28 kg como peso corporal médio, momento em que todos os animais foram abatidos de acordo com as normas do Departamento de Agricultura do Brasil (RIISPOA, 2018). Antes do abate, os borregos foram pesados e, em seguida, submetidos a jejum de 16 horas. As amostras foram coletadas do músculo *Longissimus thoracis* (LT) logo após o abate, imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e mantidas a -80°C (Oliveira et al., 2015). Posteriormente, as amostras congeladas por um período de 30 dias foram liofilizadas (Liofilizador L101 – Liotop/Liobras, Brasil) e armazenadas em tubos estéreis a -80°C, conforme descrito anteriormente (OLIVEIRA et al., 2015).

### 3.2.3. Extração de proteínas e eletroforese bi-dimensional

Para extração de proteínas, 5 mg de amostras de LT liofilizadas de cada animal foram reidratadas em 100 µL de água ultrapurificada (Direct-Q, Millipore®, EUA), com 1% de TRITON-X 100 e refrigeradas a 5°C por 1h. Posteriormente, foram adicionados 400 µL de tampão de amostra (ureia 7 M, tiourea 2 M, 4% CHAPS, 2% IPG pH 3 a 10, 40 mM DTT – GE Healthcare, EUA) (Oliveira et al., 2015). O extrato obtido foi sonificado e depois centrifugado a 5.000 x g por 30 min a 4°C. O material extraído foi diluído em água (1:20) e a concentração de proteína solúvel total foi determinada usando albumina de soro bovino (Sigma-Aldrich, EUA) como padrões (BRADFORD, 1976).

Para focalização isoeétrica, proteínas de LT (1.000 µg/amostra) foram solubilizadas em solução de reidratação (7 M de uréia, 2 M de tiouréia, 2% IPG pH 3-10, 0,002% de azul de bromofenol – GE Healthcare, EUA), conforme descrito anteriormente (REGO et al., 2016). Tiras de IPG (18 cm, pH 3 a 10) foram reidratadas em 340 mL desta solução proteica por 16 h e depois submetidas à focagem isoeétrica em um ETTAN IPGphor 3 (GE LifeSciences, USA) a 20°C e o seguinte plano de voltagem: 100 V (1h); 250 V (1h); 500 V (1h); 1000 V (1h); 5000 V (1h); 7000 V

(12750 Vh); 7000 V (40000 Vh); 100 V (2400 Vh). As tiras de IPG focadas foram equilibradas por 20 min em 6M de ureia, 50 mM Tris-HCL pH 8,8, 29,3% v/v glicerol, 2% p/v SDS, 1% p/v DTT e depois por mais 20 min no mesmo tampão, exceto que o DTT foi substituído por 2,5% p/v de iodoacetamida. Após o equilíbrio, as tiras de IPG foram fixadas com agarose (5% em tampão de corrida SDS-PAGE) no topo de géis homogêneos de SDS-PAGE (12,5%) em um sistema Caster Ettan DALTsix (GE Life Sciences) e executados a 20 mA por gel (fonte de alimentação EPS 601; GE Life Sciences). Os géis foram corados com Comassie Brilliant Blue (CBB) coloidal G-250 (REGO et al., 2016) em um procedimento envolvendo fixação em etanol 30% e ácido fosfórico 2% durante a noite; três lavagens de 20 min em ácido fosfórico 2% e adição de ácido fosfórico 2%, sulfato de amônio 15% e etanol 18% por 30 min, seguido de adição de CBB 2%, que durou 72 h.

#### **3.2.4. Análises das imagens e dados**

Os Géis bidimensionais foram escaneados (Image Scanner; GE Lifesciences, EUA) a 300 dpi e a detecção e quantificação de *spots* foram realizadas com PDQuest™ versão 8.0.1 (Bio-Rad Laboratories, EUA), de acordo com nossa metodologia anterior (MOURA et al., 2006; SOUZA et al., 2012; VAN TILBURG et al., 2013; REGO et al., 2016). Neste caso, um gel representativo foi criado pelo PDQuest com base nos géis de todas as amostras e *spots* consistentemente presentes nos mapas também foram adicionadas ao gel *master*. Proteínas detectadas em diferentes locais nos géis foram usadas como marcadores de localização para permitir o alinhamento correto de cada ponto nos diferentes géis. A quantificação dos *spots* foi atribuída em partes por milhão (ppm) da densidade óptica total integrada de cada gel.

#### **3.2.5. Digestão com tripsina de proteínas do *Longissimus thoracis***

Os spots de proteína de interesse foram extirpados dos géis em pedaços de aproximadamente 1 mm<sup>3</sup> e digeridos em tripsina (SHEVCHENKO et al., 1996; REGO et al., 2016). Posteriormente, os pedaços de gel foram lavados em 400 µL de solução contendo acetonitrila 50%, bicarbonato de amônio (50% a 25 mM e pH 8,0), por 18h à temperatura ambiente. Pedaços de gel foram desidratados duas vezes com 200 µL de acetonitrila absoluta por 5 min e posteriormente secos em um concentrador de vácuo

rotativo. As proteínas foram incubadas em solução de tripsina, ácido acético 50 mM e bicarbonato de amônio 50 mM, por 20h a 37°C. Os peptídeos foram extraídos em 50 µL de ácido fórmico (5%), acetonitrila (50%) por 30 min, em três lavagens. Os extratos reunidos foram liofilizados e reconstituídos em solução de ácido fórmico (0,1%) antes de serem submetidos à cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa.

### 3.2.6. Identificação de proteína por espectrometria de massa

Os peptídeos trípticos foram separados em uma coluna BEH300 C18 (100 µm × 100 mm) usando o sistema nanoAcquity™ (Waters Corp., EUA) e eluídos a 600 µL/min com um gradiente de acetonitrila (5-85%) contendo 0,1% de fórmica ácido (OLIVEIRA et al., 2015). O sistema de cromatografia líquida foi conectado a uma fonte de espectrometria de massa nanoelectrospray (sistema SYNAPT HDMS, Waters Corp., EUA). O espectrômetro de massa foi operado em modo positivo usando uma temperatura de fonte de 90°C e uma tensão capilar de 3,5 kV. O instrumento foi calibrado com fragmentos de íons protonados duplos (ácido fosfórico, m/z 686,8461), e o íon intacto foi usado como massa de bloqueio durante a aquisição. O procedimento LC-MS/MS foi realizado de acordo com o método Data Dependent Acquisition (DDA), selecionando os íons precursores MS/MS de dupla ou tripla carga. Os íons foram fragmentados por dissociação induzida por colisão usando argônio como energia de colisão de colisão e gás de rampa que variou de acordo com o estado de carga do íon precursor selecionado. A aquisição de dados foi realizada em uma faixa de m/z de 300 a 2100 para MS survey (1 varredura/s), em uma faixa de m/z de 50 a 2500 para MS/MS. Os dados foram coletados com o software MassLynx 4.1, processados usando Protein Lynx Global Server 2.4 (Waters Corp., EUA) e convertidos em arquivos de texto de lista de picos para pesquisa de banco de dados (.pkl). Os dados foram enviados para um servidor Mascot (Matrix Science, Londres, Reino Unido, v.2.6) para pesquisar as bases de dados SwissProt e UP9136\_B\_taurus (espécies bovina, ovina, caprina e coelhos). As buscas foram realizadas de acordo com os seguintes critérios: uma perda de clivagem da tripsina, peptídeos monoisotópicos com carga 1+, 2+ e 3+, com modificação fixa nos resíduos de cisteína carbometilada e com modificação variável nos resíduos de metionina oxidada. A tolerância ao erro foi calculada como  $[\Delta m/m \times 106]$  MilliDaltons (Brenton e Godfrey, 2010; 1mDa = 0,001 unidades de massa,  $\Delta m$  = diferença entre a massa exata e a massa exata medida, m = massa exata).

### 3.2.7. Análises de bioinformática

Proteínas identificadas em amostras do músculo LT de borregos Santa Inês e Somalis Brasileira foram avaliadas de acordo com termos de ontologia gênica para processo biológico, função molecular, componente celular e classe proteica, utilizando a plataforma Panther (<http://www.pantherdb.org/>), baseada em UniprotKb (THOMAS et al., 2003). Além disso, redes proteína-proteína foram recuperadas do banco de dados String, versão 11.0 (SNEL et al., 2000) score 0.900 (alta confiança), proteínas de busca e FDR (1%). Os bancos de dados consistem em interações de proteínas conhecidas e previstas coletadas de associações diretas e indiretas. A análise de rede foi avaliada para cada raça, usando banco de dados de espécies bovinas.

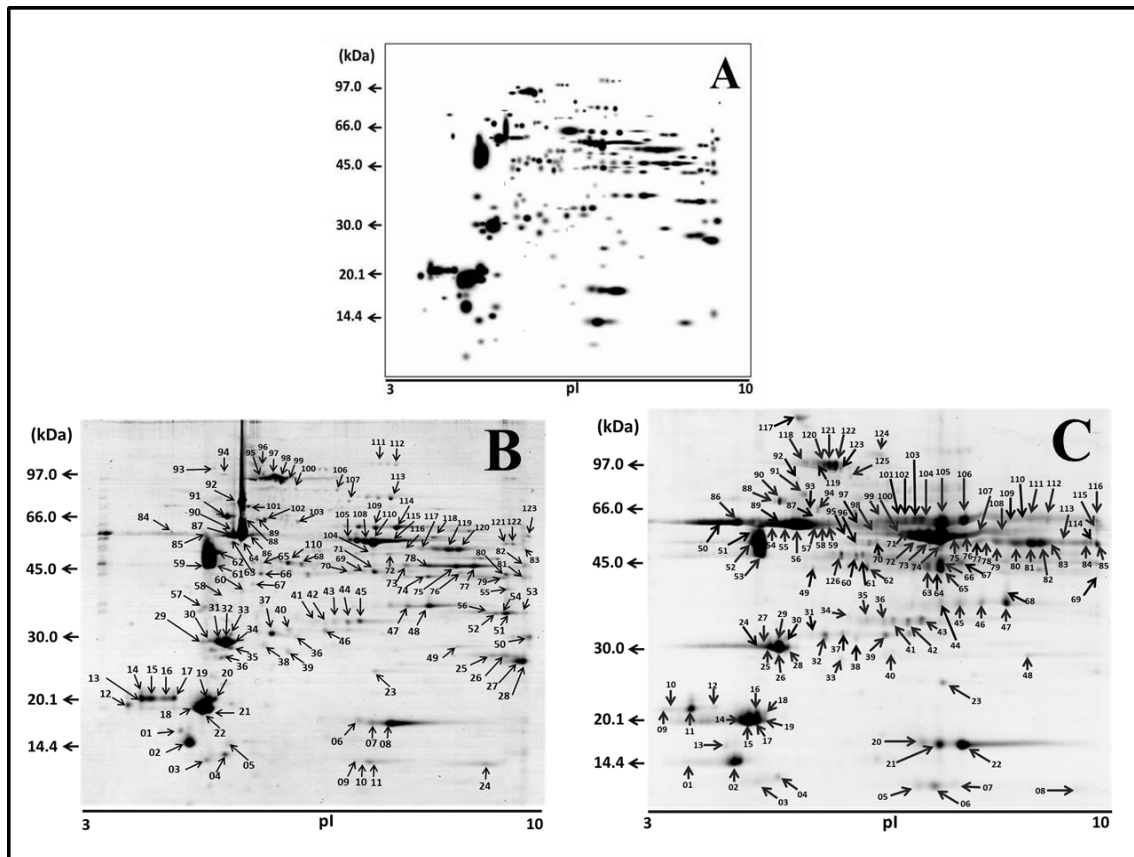
### 3.3. Resultados

Em média,  $202 \pm 15$  e  $212 \pm 12$  spots foram detectados nos géis 2-D com proteínas musculares do *Longissimus thoracis*-LT de borregos Somalis Brasileira e Santa Inês, respectivamente. Os spots presentes no gel *master* (Figura 2A) correspondem aos spots detectados nos géis de referência (Figuras 2B e 2C) e spots adicionados de outros conjuntos de correspondência. Um total de 126 spots nos Somalis Brasileira e 123 spots no gel Santa Inês foram identificados por espectrometria de massa, correspondendo a 39 e 51 proteínas diferentes, respectivamente (Figura 2; Apêndice A).

O grupo mais abundante de proteínas musculares dos borregos Somalis brasileira foi identificado como proteínas estruturais, incluindo actin (actin aortic smooth muscle e  $\alpha$ -actin cardiac muscle 1), myosin light chain (1/3 skeletal muscle isoform, polypeptide 6, 3 e 6B), myosin light chain regulator 2 (skeletal muscle isoform e ventricular/ cardiac muscle isoform), myosin 2 e myosin binding protein H, desmin, tropomyosin chain  $\alpha$  e  $\beta$  e troponin C (fast skeletal muscle type e skeletal muscle) e Troponin T (Figura 2C, Apêndice A). Estas proteínas representam a  $46,39 \pm 4,8\%$  do total de intensidades dos spots detectados nos géis. O segundo grupo de proteínas mais abundantes no LT de borregos Somalis brasileira foram relacionados ao metabolismo energético como adenylate kinase,  $\alpha$ -crystallin B chain, ATP synthase subunit delta e beta,  $\beta$ -enolase, glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, anhydrase carbonic 3,

creatine kinase M type, cytochrome mitochondrial, malate dehydrogenase, pyruvate dehydrogenase, phosphoglycerate mutase, fructose biphosphate aldolase e triosephosphate isomerase. A intensidade desses *spots* representou  $31,13 \pm 5,4\%$  de todas as intensidades detectadas nos géis 2-D. Heat shock protein, hemoglobin, myoglobin, serotransferrin e albumin também foram identificadas nas amostras de LT de borregos Somalis brasileira.

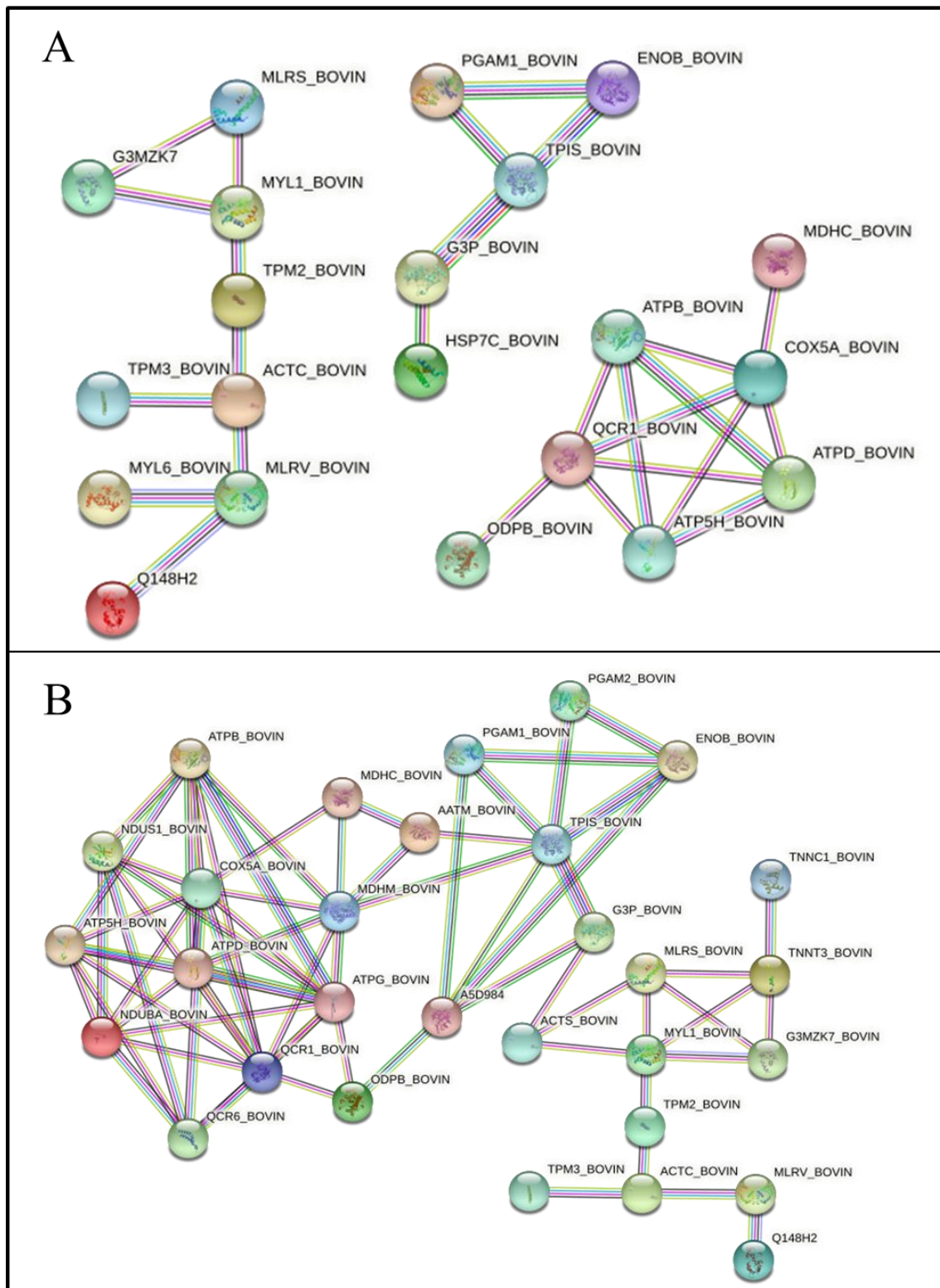
No LT de borregos Santa Inês, as proteínas com maior abundância foram identificadas como actin (actin aortic smooth muscle,  $\alpha$ -actin cardiac muscle e  $\alpha$ -actin skeletal muscle), actin cytoplasmic, myosin light chain (1/3, skeletal muscle isoform, 3 e 6B) e myosin light chain regulator 2 (skeletal muscle isoform e ventricular/ cardiac muscle isoform), troponin (C, I e T), keratin (type II, cytoskeletal muscle 75 e 5), desmin e tropomyosin chain  $\alpha$  e  $\beta$ . Este grupo de proteínas representou  $44,09 \pm 5,5\%$  do total de intensidades de *spots* detectados nos géis 2-D (Figura 2B; Apêndice A). O segundo maior grupo de proteínas consistiu em proteínas envolvidas no metabolismo energético, incluindo glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, lactate dehydrogenase, aspartate aminotransferase mitochondrial, ATP synthase subunit delta, gamma e  $\beta$  mitochondrial,  $\beta$ -enolase, carbonic anhydrase 3, creatine kinase M type, cytochrome mitochondrial, fructose biphosphate aldolase, malate dehydrogenase mitochondrial e cytoplasmic, pyruvate kinase e dehydrogenase, NADH-ubiquinone oxidoreductase, entre outras. A intensidade desses *spots* representa  $21,62 \pm 4,2\%$  de todas as intensidades de *spots* quantificados nos géis. Proteína 14-3-3 gama, heat shock protein, hemoglobin, myoglobin, serotransferrin e albumin também foram identificadas.



**Figura 2.** Mapa bidimensional das proteínas do músculo *Longissimus thoracis* (LT) de borregos deslanados. (A) Representa o gel mestre gerado pelo software PDQuest (Bio-rad, EUA), baseado em um match set com todos os 20 géis usados no estudo. (B) Gel representativo de proteínas LT da raça Santa Inês. (C) Gel representativo de proteínas LT de Somalis brasileira. Os números spot referem-se aos descritos na Tabela 1 Anexo I.

A análise *in silico* utilizando a plataforma String detectou múltiplas interações envolvendo proteínas musculares LT de cordeiros Somalis Brasileira e Santa Inês (Figura 3A e 3B).

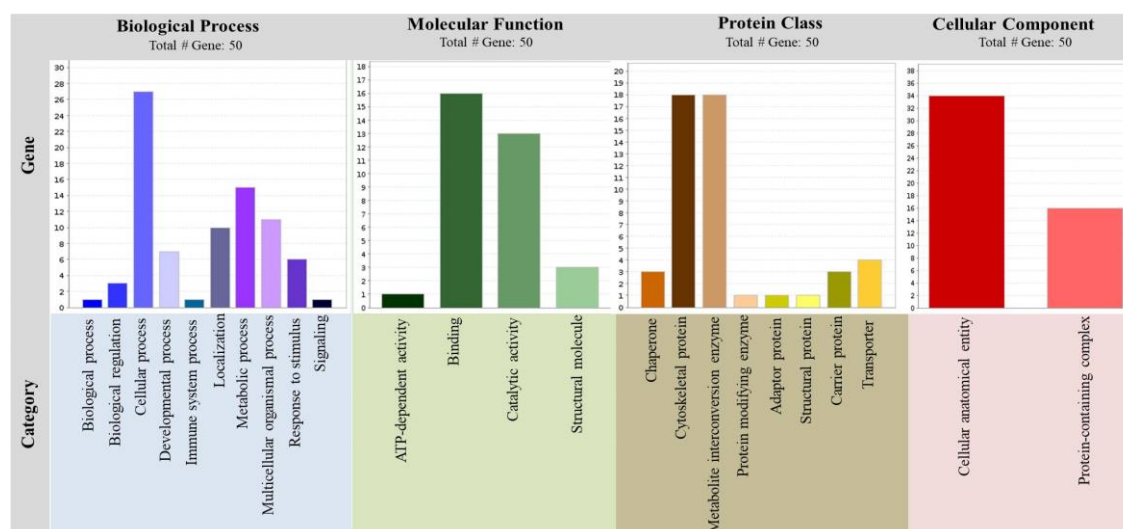




**Figura 3.** Análise *in silico* das interações proteicas do músculo *Longissimus thoracis* de borregos Somalis Brasileira (A) e Santa Inês (B), determinadas por STRING software version 11.0. A análise incluiu todas as proteínas incluídas na tabela 01, mas com exceção das que não tiveram interação. Legenda: Actina (ACTC\_BOVIN e ACTS\_BOVIN); Miosina (Q148H2, MLRS\_BOVIN, MYL6\_BOVIN, MYL1\_BOVIN, MLRV\_BOVIN), TROPOMIOSINA (TPM2\_BOVIN, TPM3\_BOVIN); Heat shock protein

(HSP7C\_BOVIN); Troponina (G3MZK7, TNNC1\_BOVIN, TNNT3\_BOVIN); Cytochrome oxidase (COX5A\_BOVIN); Cytochrome b-c1 complex (QCR1\_BOVIN and QCR6\_BOVIN); Beta enolase (ENOB\_BOVIN); Malato desidrogenase (MDHC\_BOVIN, MDHM\_BOVIN); Phosphoglycerate (PGAM1\_BOVIN, PGAM2\_BOVIN); Glyceraldehide phosphate desidrogenase (G3P\_BOVIN); ATP synthase (ATPD\_BOVIN, ATPB\_BOVIN, ATPG\_BOVIN, ATP5H\_BOVIN); Pyruvate desidrogenase (ODPB\_BOVIN); Triosephosphate isomerase (TPIS\_BOVIN), NADH-ubiquinone oxidoreductase (NDUS1\_BOVIN); NADH desidrogenase (NDUBA\_BOVIN); Aspartate aminotransferase (AATM\_BOVIN); Pyruvate kinase (A5D984).

As categorias e termos da ontologia gênica para processo biológico, função molecular, componentes celulares e classes proteicas de proteínas LT de borregos Somalis e Santa Inês brasileiros são mostrados na Figura 04. As funções moleculares mais importantes relacionadas às proteínas identificadas são ligação, atividade catalítica e estrutura molecular e os principais processos biológicos foram caracterizados como processos celulares, processos metabólicos, processo de organismo multicelular e localização. Em relação ao componente celular, as proteínas foram definidas principalmente como entidade anatômica celular e complexos de proteínas. Quanto às classes de proteínas avaliadas pela plataforma Panther, as proteínas foram identificadas como proteína do citoesqueleto, enzima de interconversão de metabólitos e transporte (Figura 4).



**Figure 4.** Termos de ontologia gênica de proteínas do músculo *Longissimus thoracis* de borregos de raças localmente adaptadas (Somalis Brasileira e Santa Inês) criados em sistema de integração lavoura-pecuária no Nordeste do Brasil, associados ao processo

biológico, função molecular, componente celular e classe proteica. Os dados e a identificação das proteínas foram analisados pelo sistema de classificação Panther (<http://geneontology.org/>) e com base no banco de dados UniprotKB

### 3.4. Discussão

A abordagem proteômica utilizada no presente estudo combinou eletroforese bidimensional, espectrometria de massa e ferramentas de bioinformática, permitindo a identificação das principais assinaturas proteicas do *Longissimus thoracis* de borregos Somalis Brasileira e Santa Inês. Essas raças são altamente adaptadas ao ambiente tropical e possuem atuação bem conhecida no clima semiárido. Os animais incluídos neste estudo são genótipos importantes para sistemas de produção de ovinos nas regiões tropicais do Brasil, especialmente no Nordeste (RIBEIRO E GONZALEZ-GARCIA, 2016). Nesta região, os ovinos são essenciais para o estabelecimento do ambiente sociocultural dos pequenos produtores, sendo uma fonte de proteína animal mais acessível quando comparada a outras carnes vermelhas provenientes de sistemas pecuários convencionais (RAINERI et al., 2015). Por outro lado, o sistema integrado lavoura-pecuária utilizado em nosso presente estudo é conhecido pelo cultivo grãos, pastagens e animais. O sistema integrado é uma opção sustentável para regiões tropicais (AYANTUNDE et al., 2018), pois o uso de pequenos ruminantes permite a reciclagem adequada de nutrientes e deposição de matéria orgânica no solo (RUDEL et al., 2016). Essa abordagem de sistema integrado também reduz o uso de insumos externos e contribui para o uso sustentável e eficiente da terra.

O presente estudo é o primeiro a avaliar o perfil proteico do *Longissimus thoracis* de borregos deslanados, adaptados ao clima tropical. As proteínas identificadas no tecido muscular LT das duas raças incluem proteínas do citoesqueleto celular, que desempenham papéis dinâmicos na plasticidade, transporte e processos de sinalização celular e morfologia celular (MONTEIRO et al., 2011). Foram encontradas proteínas musculares LT que participam de processos biológicos como estruturais, regulação biológica, eventos celulares e metabólicos, respostas imunes, além de desempenhar funções moleculares como atividade catalítica e transporte ativo.

O músculo esquelético é caracterizado pelo alto teor de proteínas estruturais, que são suscetíveis a alterações causadas por condições fisiológicas (DESAI et al., 2016). A miosina é uma das proteínas mais abundantes do sistema contrátil em associação com a actina e outras proteínas estruturais, e consiste em duas cadeias pesadas (MHC) e quatro

cadeias leves (MLC) (RATHGEBER, 1999). A MLC realiza mecanismos funcionais e estruturais na atividade motora da miosina com ação na cinética enzimática actina-miosina (CHOI et al., 2007). Vários estudos relatam a influência da miosina e suas isoformas na taxa glicolítica após o abate, via glicolítica e síntese de ácidos graxos, consumo de NADPH e ativação de desidrogenases (RATHGEBER, 1999; CHOI et al., 2007; FRANCO et al., 2015). Baixos níveis de miosina de cadeia leve e suas isoformas no músculo LT de bovinos em resposta ao estresse pré-abate são indicativos de carne do tipo escura, firme e seca (DFD) (FRANCO et al., 2015). Esses relatórios publicados indicam que a miosina é importante na fisiologia muscular e também pode afetar a qualidade da carne. A expressão abundante de miosina e suas isoformas em amostras de músculo LT pode ser um indicativo de qualidade da carne no caso das raças estudadas.

No grupo de proteínas estruturais, outras duas proteínas estavam presentes no mapa das duas raças, a tropomiosina que está diretamente ligada à forma enrolada da actina, sendo responsável por bloquear o sítio de ligação actina/miosina e a troponina, que por outro lado, possui três subunidades (troponina C, I e T), uma com afinidade para actina, uma para moléculas de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e outra com afinidade para tropomiosina. Este último bloqueia a ação da tropomiosina, formando um complexo troponina-tropomiosina dependente de  $\text{Ca}^{2+}$ . Raças com maior deposição muscular, apresentam menor expressão de troponina Almeida et al., (2016). Estudos mostram que a troponina I é superexpressa no músculo esquelético de bovinos criados a pasto quando comparados aos animais alimentados com grãos (SHIBATA et al., 2009) e que a troponina I tem expressão diminuída em bovinos com fenótipo de músculo duplo (BOULEY et al., 2005). Todos esses resultados confirmam que a troponina é influenciada pelas estratégias de alimentação e afeta a biologia muscular em ovinos e bovinos. No entanto, investigações adicionais são necessárias para determinar como a expressão de troponina é controlada em raças localmente adaptadas criadas em pastagem.

A desmina foi outra proteína presente nas amostras de músculo LT das duas raças estudadas. Essa proteína conecta o ápice contrátil ao núcleo das células mitocondriais musculares e áreas pós-sinapse das placas motoras, mantendo a integridade estrutural e motora da célula muscular durante a contração (GEESINK et al., 2017). Maior abundância de desmina em ovinos da raça Dâmara sugere que esses animais estão mais adaptados às condições de restrição alimentar em comparação com ovinos Dorper e Merino (ALMEIDA et al., 2016). Assim, animais com altos níveis de

desmina tendem a manter a estrutura e função do músculo durante condições de perda de peso. Em nosso estudo, presença de desmina no tecido muscular de borregos Somalis Brasileira e Santa Inês podem estar relacionada à capacidade de adaptação a sistemas de produção a pasto.

No presente estudo, identificamos diferentes proteínas envolvidas no metabolismo energético/enzimático do tecido muscular esquelético. Análises baseadas em espectrometria de massa detectaram isoformas da creatina quinase tipo M (CKM) e seu precursor em amostras de músculo LT de borregos Somalis Brasileira e, em menor abundância em animais Santa Inês. Além dessas, outras enzimas envolvidas nas vias de produção de energia também foram identificadas nas amostras de LT, como beta enolase, triosefosfato isomerase, adenilato quinase, frutose bifosfato aldolase e anidrase carbônica.

A CKM é responsável pela principal via de produção de energia no tecido muscular, pois catalisa a transferência do grupo fosfato e ATP para diversos compostos, incluindo a fosfocreatina (PHONGPA-NGNAN et al., 2011). Alguns autores relatam uma associação entre CKM com carnes do tipo PSE (Pale, Soft and Exudative) em suínos e que ocorre um aumento na atividade de CKM em situações estressantes no pré abate e lesões musculares (SCHILLING et al., 2017).

A beta-enolase é uma proteína multifuncional complexa, com atividade enzimática e glicolítica atuando poucos minutos após a morte. Os autores sugerem que a presença de beta-enolase no tecido muscular está positivamente correlacionada com a força de cisalhamento e negativamente ligada ao pH final em suínos e aves (DESAI et al., 2016; SCHILLING et al., 2017).

A anidrase carbônica ou carbonato desidrase, presente nos mapas 2-D das amostras de LT nas raças Somalis Brasileira e Santa Inês, tem sido identificada como um potencial marcador de qualidade de carne em outras espécies, como bovinos e suínos. Essa enzima atua no transporte de oxigênio e no controle do pH durante a conversão do músculo em carne (DESAI et al., 2016) e é responsável por catalisar a hidratação reversível do dióxido de carbono (HAMELIN et al., 2007). Estudos mostram que a expressão do gene da anidrase carbônica está positivamente correlacionada com a perda de peso por cozimento e negativamente com o pH final da carne suína (DAMON et al., 2013). A anidrase carbônica também foi positivamente correlacionada com a força de cisalhamento em estudos que avaliaram o proteoma de carne de frango do tipo PSE (DESAI et al., 2016), e seus altos níveis no tecido muscular podem ser um

indicativo de aumento da atividade glicolítica e pH da carne mais baixo (SCHILLING et al., 2017). Por outro lado, a frutose bifosfato aldolase, que foi detectada tanto no músculo LT do Somalis Brasileira quanto no Santa Inês é abundante em carnes de suínos e aves normais e de boa qualidade (DESAI et al., 2016; SCHILLING et al., 2017).

Proteínas com função enzimática foram identificadas nos mapas proteicos dos animais Somalis Brasileira e Santa Inês, incluindo gliceraldeído fosfato desidrogenase, malato desidrogenase, lactato desidrogenase, NADH-ubiquinona oxireductase e piruvato desidrogenase. Essas enzimas são responsáveis por catalisar a redução de moléculas de óxido hidrogênio (H<sup>+</sup>) para NAD ou FAD (XIN et al., 2018; DENG et al., 2019; SKRLEP et al., 2019). Ainda, alguns estudos relataram a presença de gliceraldeído fosfato desidrogenase e lactato desidrogenase em músculo ovino com estabilidade de cor (XIN et al., 2018). Sendo, essas enzimas, potenciais indicadores da qualidade da carne em borregos localmente adaptados ao clima tropical. Outro grupo de enzimas presentes nos géis de proteínas musculares LT foram as quinases (adenilato quinase,  $\alpha$ -cristalina e fosfoglicerato quinase), que atuam na apoptose celular e no processo de envelhecimento da carne, catalisando a transferência de um grupo fosfato de um composto energético, principalmente ATP (LONGO et al., 2015; DENG et al., 2019).

A  $\beta$ -globina, encontrada nas amostras de LT de Somalis Brasileira, desempenha um papel na estabilidade da hemoglobina e da mioglobina e também está associada à cor da carne (PONCE et al., 1994).

A fosfoglicerato mutase catalisa esteve presente principalmente nos mapas proteicos do grupo Santa Inês, sendo essa enzima codificada pelo gene *Pgam2*, que está envolvido no crescimento e desenvolvimento do tecido muscular e pela conversão de grupos fosfato de baixa energia durante a glicólise (QIU et al., 2008).

A isomerase (triosefosfato isomerase) catalisa reações de isomerização no tecido muscular e foi detectada no proteoma do *Longissimus thoracis* dos borregos Somalis Brasileira e Santa Inês. Outras proteínas conhecidas por sua atividade enzimática, incluindo ATP sintase ou trifosfato de adenosina, também foram encontradas nos géis 2-D de proteínas musculares LT. Essas moléculas participam da quimiosmose e, juntamente com a cadeia transportadora de elétrons, atuam na fosforilação oxidativa no tecido muscular (LIU et al., 2016).

Nossa abordagem proteômica baseada em gel detectou a presença de proteínas *Longissimus thoracis* envolvidas nos processos de estresse oxidativo e organização

celular, incluindo proteínas de choque térmico (HSPs). As HSPs são conhecidas por suas funções protetoras e de organização celular (CARVALHO et al., 2014), restauração da configuração normal de polipeptídeos mal dobrados e regulação da quebra de proteínas (LOMIWES et al., 2014; OH et al., 2019). As HSPs são agrupadas de acordo com sua massa molecular, sendo pequenas HSP, HSP60, HSP70, HSP90 e HSP100 (FINK, 1999). No presente estudo, pequenas HSPs (com 31,3 kDa) foram expressas no tecido muscular de borregos Somalis Brasileira e Santa Inês. HSP7 foi outro componente da família HSPs detectado em nosso estudo, atua na organização de outras proteínas celulares e possui atividade antiapoptótica (OH et al., 2019). Nos bovinos, as HSPs são expressas em níveis mais elevados durante o período pós-abate, indicando uma ação mediada por HSP capaz de alterar eventos metabólicos no músculo (LOMIWES et al., 2013). Proteínas do choque térmico e proteínas estruturais estão associados à menor força de cisalhamento e conseqüentemente a maciez da carne em bovinos Nelore (CARVALHO et al., 2014), sugerindo que os HSPs são potenciais indicadores da qualidade da carne e das características sensoriais da carne (KIM et al., 2011). Um grupo de proteínas com ação antioxidante, incluindo a sorotransferrina, foi identificado nas amostras de *Longissimus thoracis* das raças estudadas.

As análises *in silico* indicaram um alto grau de interações entre proteínas estruturais que regulam a biologia muscular e o complexo ATP, como miosina, tropomiosina, troponina, creatina quinase,  $\alpha$  e  $\beta$  actina. Proteínas envolvidas no metabolismo energético e estresse oxidativo nas células musculares, como creatina quinase, ATP sintetase, beta enolase, anidrase carbônica, triosefosfato isomerase I, triose isomerase, fosfoglicerato quinase e HSP compartilhavam ligações indicando que a maioria das proteínas detectadas nas amostras de LT faziam parte de uma intrincada gama de eventos estruturais e metabólicos.

### 3.5. Conclusão

Em resumo, atualmente descrevemos o proteoma do músculo *Longissimus thoracis* de duas das mais importantes raças de carneiros deslanados localmente adaptadas às condições semiáridas do nordeste do Brasil, Somalis Brasileira e Santa Inês. Exclusivamente, o estudo foi baseado em amostras coletadas de animais criados em sistema agropecuário sustentável, em ambiente semiárido típico do Nordeste brasileiro. A análise de amostras de *Longissimus thoracis* por 2-D SDS-PAGE e LC-

MS/MS resultou na identificação de proteínas associadas a eventos fisiológicos e bioquímicos potencialmente envolvidos com a qualidade da carne em ovinos. Os resultados do presente estudo abrem novas perspectivas para futuras pesquisas focadas na identificação de biomarcadores moleculares relacionados à qualidade da carne de cordeiros deslanados criados em regiões tropicais.



## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M.A.; PALHINHAS, R.G.; KILMINSTER, T.; SCANLON, T.; VAN HARTEN, S.; MILTON, J.; BLACHE, D.; GREEFF, J.; OLDHAM, C.; COELHO, A.V.; CARDOSO, L.A. The Effect of Weight Loss on the Muscle Proteome in the Damara, Dorper and Australian Merino Ovine Breeds. **PlosOne**, v.11, 10.1371, 2016.
- ARAÚJO FILHO, J.T.; COSTA, R.G.; FRAGA, A.B.; SOUSA, W.H.; CEZAR, M.F.; BATISTA, A.S.M. Desempenho e composição da carcaça de cordeiros deslanados terminados em confinamento com diferentes dietas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 363-371, 2010.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official methods of analysis of AOAC international**. Washington, 2012.
- AYANTUNDE, A.A.; DUNCAN, A.J.; VAN WIJK, M.T.; THORNE, P. Review: Role of herbivores in sustainable agriculture in Sub-Saharan Africa. **Animal**, v. 12, p.199–209, 2018.
- BARBOSA, E.B.; VIDOTTO, A.; POLACHINI, G.M.; HENRIQUE, T.; TROVÓ, A.B.; TAJARA, E.H. Proteômica: metodologias e aplicações no estudo de doenças humanas. **Revista Associação Médica do Brasil**, v. 58, p. 366–375, 2012.
- BOULEY, J.; CHAMBON, C.; PICARD, B. Mapping of bovine skeletal muscle proteins using two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. **Proteomics**, v. 4, p. 1811-1824, 2005.
- BRADFORD, M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- BRENTON, A.G.; GODFREY, A.R. Accurate mass measurement: terminology and treatment of data. **Journal Am. Soc. Mass Spectrom**, v. 21, p.1821–1835, 2010.
- BURNISTON, J. Changes in the rat skeletal muscle proteome induced by moderate-intensity endurance exercise. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1784, p. 1077–1086, 2008.
- CAI, K.; SHAO, W.; CHEN, X.; CAMPBELL, Y.L.; NAIR, M.N.; SUMAN, S.P.; BEACH, C.M.; GUYTON, M.C.; SCHILLING, M.W. Meat quality traits and proteome profile of woody broiler breast (pectoralis major) meat. **Poultry Science**, v. 97, p. 337–346, 2018.
- CARLSON, K.B.; PRUSA, K.J.; FEDLER, C.A.; STEADHAM, E.M.; HUFF-LONERGAN, E.; LONERGAN, S.M. Proteomic features linked to tenderness of aged pork loins. **Journal of Animal Science**, v. 95, p. 2533–2546, 2017.
- 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**, v. 96, p. 1318–1324, 2014.

CARVALHO, P.C.F.; BARROS, R.S.; NETO, A.B.; NUNES P.A.A.; MORAES, A.; ANGHINONI, I.; BREDEMEIER, G.; BAYER, G.; MARTINS, A.P.; KUNRATH, T.R.; SANTOS, D.T.; CARMONA, F.C.; BARROS, T.; SOUZA FILHO, W.; ALMEIDA, G.M.; CAETANO, L.A.M.; GECAGNO, A.F.; DENARDIN, L.G.O.; BONETTI, J.Á.; TONI, C.A.G.; MORAES, J.B. Integrating the pastoral component in agricultural systems. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 47, 2018.

CEZAR, M.F.; SOUSA, W.H. Carcaças ovinas e caprinas: obtenção, avaliação, classificação. **Agropecuária tropical**, Uberaba, p. 147. 2007.

CHEN, L.; LI, X.; NI, N.; LIU, Y.; CHEN, L.; WANG, Z. Phosphorylation of Myofibrillar Proteins in post-mortem Ovine Muscle with Different Tenderness. **Journal Science. Food Agriculture**, v. 96, p. 1474–1483, 2016.

CHOI, Y.M.; RYU, Y.C.; KIM. Influence of myosin heavy and light chain isoforms on early postmortem glycolytic rate and pork quality. **Meat Science**, v. 76, p. 281–288, 2007.

CLEMENTINO, R.H.; SOUSA, W.H.; MEDEIROS, N.A.; CUNHA, M.G.G.; GONZAGA NETO, S.; CARVALHO, F.F.R.; CAVALCANTE, M.A.B. Effect of concentrate levels on retail cuts, non-carcass and leg components of crossbred feedlot lambs. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 681–688, 2007.

DAMON, M.; DENIEUL, K.; VICENT, A.; BONHOMME, N.; WYSZYNSKA-KOKO, J.; LEBRET, B. Associations between muscle gene expression pattern and technological and sensory meat traits highlight new biomarkers for pork quality assessment. **Meat Science**, v. 95, p. 744–754, 2013.

DENG, X.; LEI, Y.; YU, Y.; LU, S.; ZHANG, J. The Discovery of Proteins Associated with Freshness of Coregonus Peled Muscle During Refrigerated Storage. **Journal of Food Science**, v. 84, p. 1266–1272, 2019.

DESAI, M.A.; JACKSON, V.; ZHAI, W.; SUMAN, S.P.; NAIR, M.N.; BEACH, C.M.; SCHILLING, M.W. Proteome basis of pale, soft and exudative-like (PSE-like) broiler breast (*Pectoralis major*) meat. **Poultry Science**, v. 95, p. 2696–2706, 2016.

FERREIRA, D.F. Sisvar: Versão 5.0 (Build 71), 2007.

FINK, A.L. Chaperone-mediated protein folding. **Physiological Reviews**, v. 79, p. 425–449, 1999.

FRANCO, D.; MATO, A.; SALGADO, F.J.; PEDROUSO, M.L.; CARRERA, M.; BRAVO, S.; PARRADO, M.; GALLARDO, J.M.; ZAPATA, C. Tackling proteome changes in the *Longissimus thoracis* bovine muscle in response to pre-slaughter stress. **Journal of Proteomics**, v. 122, p. 73–85, 2015.

FUNCEME - Fundação cearense de meteorologia e recursos hídricos.  
<http://www.funceme.br/app/calendario/produto/municipios/media/anual>. (Acessado em: 15 de abril, 2020).

- GAGAOUA, M.; MONTEILS, V.; PICARD, B. Decision tree, a learning tool for the prediction of beef tenderness using rearing factors and carcass characteristics. **Journal Science Food Agriculture**, v. 99, p. 1275-1283, 2019.
- GEESINK, G.H.; HEUVEL, A.; HUNT, W. Meat quality attributes of Agile Wallabies. **Meat Science**, v. 133, p. 173 - 179, 2017.
- GOMES, M.B.; NEVES, M.L.M.W.; BARRETO, L.M.G.; MORAIS, J.S.; VERAS, A.S.C. Prediction of carcass composition through measurements in vivo and measurements of the carcass of growing Santa Inês sheep. **PlosOne**, v. 16, 2021.
- HAMELIN, M.; SAYD, T.; CHAMBON, C.; BOUIX, J.; BIBÉ, B.; MILENKOVIC, D.; LEVEZIEL, H.; GEORGES, M.; CLOP, A.; MARINOVA, P.; LAVILLE, E. Differential expression. Of sarcoplasmic proteins in four heterogeneous ovine skeletal muscles. **Proteomics**, v. 7, p. 271–280, 2007.
- KIM, N.K.; LIM, D.; LEE, S.H.; CHO Y.M.; PARK, E.W.; LEE, C.S.; SHIN, B.S.; KIM, T.H.; YOON, D. H. Heat shock protein B1 and its regulator genes are negatively correlated with intramuscular fat content in the *Longissimus thoracis* muscle of Hanwoo (Korean cattle) steers. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 5657-5664, 2011.
- LEMAIRE, G.; FRANZLUEBBERS, A.J.; CARVALHO, P.C.F.; DIDIEU, B. Integrated crop-livestock systems: strategies to achieve synergy between agricultural production and environmental quality. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 190, p. 4-8, 2014.
- LIU, X.; TRAKOOLJUL, N.; MURÁNI, E.; KRISCHECK, C.; SCHELLANDER, K.; WICKE, M.; WIMMERS, K.; PONSUKSILI, S. Molecular changes in mitochondrial respiratory activity and metabolic enzyme activity in muscle of four pig breeds with distinct metabolic types. **Journal Bioenerg Biomembr**, v. 48, p. 55-65, 2016.
- LOBO, R.N.B.; CHAPARRO-PINZÓN, A.; NETO, F.V.M.; LIMA, L.D.; BATISTA, A.S.M.; LOBO, A.M.B.O. Do carcasses of lambs finished on comercial production systems meet Market standards?. **Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, p. 1671-1683, 2018.
- LOMIWES, D.; FAROUK, M.M.; FROST, D.A.; DOBBIE, P.M.; YOUNG, A.O. Small heat shock proteins and toughness in intermediate pH beef. **Meat Science**, v. 95, p. 472–479, 2013.
- LOMIWES, D.; FAROUK, M.M.; WIKLUND, E.; YOUNG, A.O. Small heat shock proteins and their role in meat tenderness: A review. **Meat Science**, v. 96, p. 26–40, 2014.
- LONGO, V.; LANA, A.; BOTTERO, M.T.; ZOLLA, L. Apoptosis in muscle-to-meat aging process: The omic witness. **Journal of Proteomics**, v. 125, p. 129–140, 2015.
- MARTINS, S.R.; CHIZZOTTI, M.L.; YAMAMOTO, S.M.; RODRIGUESM R.T.S.; BUSATO, K.C.; SILVA T.S. Carcass and non-carcass component yields of crossbred boer and brazilian semiarid indogenous goats subjected to diferente feeding levels. **Tropical Animal Health Production**, v. 46, p. 647, 2014.

MCMANUS, C.; PAIVA, S.R.; ARAÚJO, R.O. Genética e criação de ovinos no Brasil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 236-246, 2010.

MONTE, A.L.S.; VILLARROEL, A.B.S.; PÉREZ, J.R.O.; ZAPATA, J.F.F.; BESERRA, F.J.; OLIVEIRA, A.N. Rendimento de cortes comerciais e composição tecidual da carcaça de cabritos mestiços. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 2127-2133, 2007.

MONTEIRO, M.R.; KANDRATAVICIUS, L.; LEITE, J.P. The role of cytoskeleton proteins in normal cell physiology and in pathological conditions. **Journal of epilepsy and clinical neurophysiology**, v. 17, 2011.

MORENO GARCÍA, C.A.; SCHELLBERG, J.; EWERT, F.; BRUSER, K.; CANALES-PRATI, P.; LINSTADTER, A.; OOMEN, R.J.; RUPPERT, J.C.; PERELMAN, S.B. Response of community-aggregated plant functional traits along grazing gradients: insights from African semi-arid grasslands. **Applied vegetation Science**, v. 17, pp. 470-481, 2014.

MOURA, A.A.; CHAPMAN, D.A.; KOC, H.; KILLIAN, G.J. Proteins of the cauda epididymal fluid associated with fertility of mature dairy bulls. **Journal of Andrology**, v. 27, p. 534-541, 2006.

MULLER, L. **Normas para avaliação de carcaças e concurso de carcaças de novilhos**. Santa Maria, v. 2, p. 31, 1987.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids. **The National Academies Press**, Washington. p. 347, 2007.

OH, E.; LEE, B.; CHOI, Y.M. Associations of Heat-Shock Protein Expression with Meat Quality and Sensory Quality Characteristics in Highly Marbled *Longissimus thoracis* Muscle from Hanwoo Steers Categorized by Warner–Bratzler Shear Force Value. **Foods**, v. 8, p. 638, 2019.

OLIVEIRA, C.H.A.O.; SILVA, A.M.; SILVA, L.; VAN TILBURG, M.F.; FERNANDES, C.C.L.; MOURA, A.A.; MORENO, F.B.M.B.; MONTEIRO-MOREIRA, A.C.O.; MOREIRA, R.A.; BEZERRA, F.J.; RONDINA, D. Meat quality assessment from young goats fed for long periods with castor de-oiled cake. **Meat Science**, v. 106, p. 16–24, 2015.

OLIVEIRA, D.S.; ROGÉRIO, M.C.P.; BATISTA, A.S.M.; ALVES, A.A.; ALBUQUERQUE F.H.M.A.R.; POMPEU, R.C.F.F.; GUIMARÃES, V.P.; DUARTE, T.F. Desempenho e características da carcaça de cordeiros SPRD cruzados com as raças Santa Inês e Somalis Brasileira terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, p. 937-946, 2014.

OSÓRIO, M.T.; OSÓRIO, J.C.S.; SILVA SOBRINHO, A.G. **Avaliação Instrumental da Carne Ovina**. In: **Produção da carne Ovina**. Jaboticabal, v.1, p. 129-146, 2008.

PEREIRA, E.S.; PIMENTEL, P.G.; FONTENELE, R.M.; MEDEIROS, N.A.; REGADAS FILHO, J.G.L.; VILLARROEL, A.B.S. Características e rendimentos de

carcaça e de cortes em ovinos Santa Inês, alimentados com diferentes concentrações de energia metabolizável. **Acta Scientiarum**, v. 32, p. 431-437, 2010.

PICARD, B.; GAGAOUA, M.; AL-JAMMAS, M.; DE KONING, L.; VALAIS, A.; BONNET, M. Beef tenderness and intramuscular fat proteomic biomarkers: muscle type effect. **PeerJ**, v. 6, p. 4891, 2018.

PINHEIRO, R.S.B.; SILVA SOBRINHO, A.G.; YAMAMOTO, S.M.; BARBOSA, J.C. Composição Tecidual dos cortes da carcaça de ovinos jovens e adultos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 565–571, 2007.

PONCE, E.; LINFORTH, R.; HALL, M.; GUERRERO, E.; TAYLOR, A.J. Stability of haem pigments in model systems and cooked meat. **Meat Science**, v. 38, p. 141-151, 1994.

QIU, H.; ZHAO, S.; XU, X.; YERLE, M.; LIU, B. Assignment and expression patterns of porcine muscle-specific isoform of phosphoglycerate mutase gene. **Journal of Genetic and Genomics**, v. 35, p. 257-260, 2008.

QUEIROZ, L.O.; SANTOS, G.R.A.; MACEDO, F.A.F.; MORA, N.H.A.P.; TORRES, M.G.; SANTANA, T.E.Z.; MACEDO F.G. Características quantitativas da carcaça de cordeiros Santa Inês, abatidos com diferentes espessuras de gordura subcutânea. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 16, p. 712-722, 2015.

RAINERI, C.; NUNES, B.C.P.; GAMEIRO, A.H. Technological characterization of sheep production systems in Brazil. **Journal Animal Science**, v.86, p. 476-485, 2015.

RATHGEBER, B.M.; PATO, M.D.; BOLES J.Á.; SHAND, P.J. Rapid post-mortem glycolysis and delay chilling of turkey carcasses cause alterations to protein extractability and degradation of breast muscle proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 2529–2536, 1999.

REGO, J.P.A.; MARTINS, J.M.; WOLF, C.A.; VAN TILBURG, M.; MORENO, F.; MONTEIRO-MOREIRA, A.C.; MOREIRA, R.A.; SANTOS, D.O.; MOURA, A.A. Proteomic analysis of seminal plasma and sperm cells and their associations with semen freezability in Guzerat bulls. **Journal of Animal Science**, v. 12, p. 5308-5320, 2016.

RIBEIRO, E.L.A.; GOZALEZ-GARCIA, E. Indigenous sheep breeds in Brazil: potential role for contributing to the sustainability of production systems. **Tropical Animal Health Production**, v. 48, p. 1305-1313, 2016.

RIISPOA, 1980. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Brasília.

RIPOLL, G.; JOY, M.; RODRIGUEZ, JÁ; SANZ, A.; TEXEIRA, A. Estimation of light lamb carcass composition by in vivo real-time ultrasonography at four anatomical locations. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 1455-1463, 2009.

RODRIGUES, R.T.S.; CHIZZOTTI, M.L.; VITAL, C.E.; PEREIRA, M.C.B.; BARROS, E.; BUSATO, K.C.; GOMES, R.A.; LADEIRA, M.M.; MARTINS, T.S. Differences in Beef Quality between Angus (*Bos taurus taurus*) and Nellore (*Bos taurus*)

*indicus*) Cattle through a Proteomic and Phosphoproteomic Approach. **Plos One**, v. 12, 2017.

RUDEL, T.; KWON, O.; PAUL, B.; BOVAL, M.; RAO, I.; BURBANO, D.; MCGRODDY, M.; LENER, A.; WHITE, D.; CUCHILLO, M.; LUNA, M.; PETERS, M. Do smallholder, mixed crop-livestock livelihoods encourage sustainable agricultural practices? A meta-analysis. **Land**, v. 5, p. 6, 2016.

SANTOS, R.C.; GOMES, D.I.; ALVES, K.S.; MEZZOMO, R.; OLIVEIRA, L.R.S.; CUTRIM, D.O.; SACRAMENTO, S.B.M.; LIMA, E.M.; CARVALHO, F.F.R. Carcass characteristics and meat quality of lambs that are fed diets with palm kernel cake. **Asian Australas JOURNAL Animal Science**, v. 30, p. 865-871, 2017.

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**, v. 132, p. 131-138, 2017.

SHENG, H.; GUO, Y.; ZHANG, L.; ZHANG, J.; MIAO, M.; TAN, H.; HU, D.; LI, X.; DING, X.; LI, G.; GUO, H. Proteomic Studies on the Mechanism of Myostatin Regulating Cattle Skeletal Muscle Development. **Front Genetic**, v. 12, 2021.

SHEVCHENKO, A.; WILM, M.; VORM, O.; MANN, M. Mass Spectrometric Sequencing of proteins from Silver-Stained Polyacrylamide Gels. **Analytical chemistry**, v. 5, p. 850-858, 1996.

SHIBATA, M.; MATSUMOTO, K.; OE, M.; OHNISHI-KAMEYAMA, M.; OJIMA, K.; NAKAJIMA, I.; MUROYA, S.E.; CHIKUNI, K. Differential expression of the skeletal muscle proteome in grazed cattle. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 2700-2708, 2009.

SILVA FILHO, J.R.V.; MOURA NETO, J.B.; ARANDAS, J.K.G.; SANTOS, L.T.A.; QUEIROZ, M.A.A.; NOGUEIRA FILHO, P.A.; VOLTOLINI, T.V.; MESQUITA, F.L.T.; CARVALHO, F.F.R.; RIBEIRO, M.N. Does crossbreeding improve the performance and carcass traits of Berganês sheep?. **Tropical Animal Health Production**, v. 17, p. 451, 2021.

SILVA SOBRINHO, A.G. **Criação de ovinos**. Jaboticabal, v. 2, p. 302, 2001.

SILVA SOBRINHO, A.G.; PURCHA, R.W.; KADIM, I.T.; YAMAMOTO, S.M. Características de qualidade da carne de ovinos de diferentes genótipos e idades ao abate. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p.1070–1078, 2005.

SKRLEP, M.; TOMAZIN, U.; LUKAC, N.B.; POKLUKAR, K.; CANDEK-POTOKAR, M. Proteomic Profiles of the (Longissimus) Muscles of Entire Male and Castrated Pigs as Related to Meat Quality. **Animals**, v. 9, p. 7, 2019.

SNEL, B.; LEHMANN, G.; BORK, P.; HUYNEN, M.A. STRING: a web-server to retrieve and display the repeatedly occurring neighbourhood of a gene. **Nucleic Acids Research**, v. 28, p. 3442–3444, 2000.

SOUZA, C.E.; REGO, J.P.A.; LOBO, C.H.; OLIVEIRA, J.T.; NOGUEIRA, F.C.; DOMONT, G.B.; FIORAMONTE, M.; GOZZO, F.C.; MORENO, F.B.; MONTEIRO-

- MOREIRA, C.R.; FIGUEIREDO, J.R.; MOURA, A.A. Proteomic analysis of the reproductive tract fluids from tropically-adapted Santa Ines rams. **Journal of Proteomics**, v. 75, p. 4436 – 4456, 2012.
- SOUSA, B.B.; BENÍCIO, A.W.A.; BENÍCIO, T.M.A. Caprinos e ovinos adaptados aos trópicos. **Journal Animal Behav Biometeorol**, v. 3, p. 42-50, 2015.
- SOUSA, M.A.P.; LIMA, A.C.S.; ARAÚJO, J.C.; GUIMARÃES, C.M.C.; JOELE, M.R.S.P.; BORGES, I.; DAHER, L.C.C.; SILVA, A.G.M. Tissue composition and allometric growth of carcass of lambs Santa Inês and crossbreed with breed Dorper. **Tropical Animal Health and Production**, v. 51, p. 1903–1908, 2019.
- TEIXEIRA, A.; MATOS, S.; RODRIGUES, S.; DELFA, R.; CADAVEZ, V. In vivo estimation of lamb carcass composition by real-time ultrasonography. **Meat Science**, v. 74, p. 289-295, 2006.
- THOMAS, P.D.; CAMPBELL, M.J.; KEJARIWAL, A.; MI, H.; KARLAK, B.; DAVERMAN, R.; DIEMER, K.; MURUGANUJAN, A.; NARECHANIA, A. PANTHER: a library of protein families and subfamilies indexed by function. **Genome Res**, v. 13, p. 2129-2141, 2003.
- TORO-MUJICA, P.M.; AGUILAR, C.; VERA, R.; BARBA, C.; RIVAS, J.; GARCÍA-MARTÍNEZ, A. Changes in the pastoral sheep systems of semi-arid Mediterranean áreas: association with common agricultural policy reform and implications for sustainability. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 13, p. 2350, 2015.
- YOKOTA, L.G.; SANTOS, G.B.; CAVALETTI, M.; SPIM, J.S.; RAMOS, P.R.R.; Perfil protéico do músculo *Longissimus dorsi* de cordeiros terminados com diferentes níveis protéicos. **Anais da 45ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 2008.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.D.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597, 1991.
- VAN TILBURG, M.F.; RODRIGUES, M.A.M.; MOREIRA, R.A.; MORENO, F.B.; MONTEIRO-MOREIRA, A.C.O.; CÂNDIDO, M.J.D.; MOURA, A.A. Membrane-associated proteins of ejaculated sperm from Morada Nova rams. **Theriogenology**, v. 79, p. 1247-1261, 2013.
- XIN, J.; LI, Z.; LI, X.; LI, M.; LI, G.; RAO, W.; ZHANG, D. Meat Color Stability of Ovine Muscles Is Related to Glycolytic Dehydrogenase Activities. **Journal of Food Science**, v. 83, p. 2432-2438, 2018.

**APÊNDICE A – LISTA DE SPOTS IDENTIFICADOS NOS GÊIS BIDIMENSIONAIS DOS OVINOS SANTA INÊS E SOMALIS  
BRASILEIRA**

Proteínas do músculo *Longissimus thoracis* de borregos Santa Inês e Somalis Brasileira identificadas por eletroforese bi-dimensional e espectrometria de massas. Os números dos spots são referentes aos descritos na Figura 1.

Proteínas do músculo *Longissimus thoracis* de borregos Santa Inês

<b>Protein and spot number</b>	<b>Experimental kDa/pI</b>	<b>Accession number</b>	<b>MS/MS Protein score</b>	<b>Sequence covered (%)</b>	<b>Matched peptides</b>
<i>ATP synthase subunit delta, mitochondrial</i>					
Spot 01	17.60/5.20	ATPD_BOVIN	79	13	<sup>(137)</sup> AQSELLGADEATR <sup>(150)</sup> <sup>(157)</sup> IEANEALVK <sup>(165)</sup>
<i>Myosin light chain 1/3, skeletal muscle isoform</i>					
Spot 01	21.03/4.96	MYL1_BOVIN	50	5	<sup>(68)</sup> ITLSQVGDVLR <sup>(78)</sup>
Spot 29	21.03/4.96	MYL1_BOVIN	155	32	<sup>(9)</sup> KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPKEEK <sup>(35)</sup> <sup>(68)</sup> ITLSQVGDVLR <sup>(78)</sup> <sup>(136)</sup> VFDKEGNGTVMGAELR <sup>(151)</sup> <sup>(152)</sup> HVLATLGEK <sup>(160)</sup>



Spot 30	21.03/4.96	MYL1_BOVIN	344	40	<sup>(9)</sup> KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPK <sup>(32)</sup> <sup>(9)</sup> KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPAPPKEEK <sup>(35)</sup> <sup>(79)</sup> KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPAPPKEEK <sup>(90)</sup> <sup>(123)</sup> DQGTIEDFVEGLR <sup>(135)</sup> <sup>(136)</sup> VFDKEGNGTVMGAELR <sup>(151)</sup> <sup>(140)</sup> EGNGTVMGAELR <sup>(151)</sup> <sup>(152)</sup> HVLATLGEK <sup>(160)</sup>
Spot 31	21.03/4.96	MYL1_BOVIN	608	44	<sup>(9)</sup> KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPK <sup>(32)</sup> <sup>(9)</sup> KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPAPPKEEK <sup>(35)</sup> <sup>(36)</sup> IDLSAIK <sup>(42)</sup> <sup>(79)</sup> KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPKEEK <sup>(90)</sup> <sup>(123)</sup> DQGTIEDFVEGLR <sup>(135)</sup> <sup>(136)</sup> VFDKEGNGTVMGAELR <sup>(151)</sup> <sup>(140)</sup> EGNGTVMGAELR <sup>(151)</sup> <sup>(152)</sup> HVLATLGEK <sup>(160)</sup>
Spot 33	21.03/4.96	MYL1_BOVIN	84	22	<sup>(9)</sup> KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPKEEK <sup>(35)</sup> <sup>(136)</sup> VFDKEGNGTVMGAELR <sup>(151)</sup>
Spot 34	21.03/4.96	MYL1_BOVIN	47	14	<sup>(9)</sup> KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPKEEK <sup>(35)</sup>
Spot 38	21.03/4.96	MYL1_BOVIN	99	22	<sup>(9)</sup> KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPK <sup>(32)</sup> <sup>(68)</sup> ITLSQVGDVLR <sup>(78)</sup>

---

					(152)HVLATLGEK <sup>(160)</sup>
<i>Cytochrome b-c1 complex subunit 6, mitochondrial</i>					
Spot 02	10.90/4.45	QCR6_BOVIN	50	7	(50)LELCDER <sup>(56)</sup>
<i>Myosin regulatory light chain 2, skeletal muscle isoform</i>					
Spot 03	19.11/4.91	MLRS_BOVIN	39	4	(53)DTFAAMGR <sup>(60)</sup>
Spot 18	18.84/4.67	MLRS_BOVIN	239	25	(32)EAFTVIDQNR <sup>(41)</sup> (42)DGIIDKEDLR <sup>(51)</sup> (52)DTFAAMGR <sup>(59)</sup> (91)LKGADPEDVITGAFK <sup>(105)</sup> (93)GADPEDVITGAFK <sup>(105)</sup>
Spot 19	19.11/4.91	MRLS_BOVIN	116	18	(43)DGIIDKEDLR <sup>(52)</sup> (53)DTFAAMGR <sup>(60)</sup> (94)GADPEDVITGAFK <sup>(106)</sup>
Spot 20	19.11/4.91	MRLS_BOVIN	39	4	(53)DTFAAMGR <sup>(60)</sup>
<i>Cytochrome c oxidase subunit 5A, mitochondrial</i>					
Spot 04	16.89/6.42	COX5A_BOVIN	204	16	(74)KGMNTLVGYDLVPEPK <sup>(89)</sup>
<i>Myosin light chain 3</i>					
Spot 05	28.54/5.19	A0A3Q1M165	54	3	(159)HVLATLGEK <sup>(167)</sup>
<i>Myoglobin</i>					

Spot 06	17.07/6.90	MYG_BOVIN	114	18	(18)VEADVAGHGQEVLR <sup>(32)</sup> (65)HGNTVLTALGGILK <sup>(78)</sup>
Spot 07	16.94/7.23	MYG_CAPHI	300	36	(18)VEADVAGHGQEVLR <sup>(32)</sup>
Spot 08	17.07/6.90	MYG_BOVIN	299	51	(2)GLSDGEWQLVLNAWGK <sup>(17)</sup> (18)VEADVAGHGQEVLR <sup>(32)</sup> (33)LFTGHPETLEK <sup>(43)</sup> (65)HGNTVLTALGGILK <sup>(78)</sup> (104)YLEFISDAIIHVLHAK <sup>(119)</sup> (141)NDMAAQYK <sup>(148)</sup>
<hr/> <i>Hemoglobin subunit beta-A</i>					
Spot 09	16.07/6.75	HBBA_CAPHI	104	24	(17)VKVDEVGAEALGR <sup>(29)</sup> (30)LLVVYPWTQR <sup>(39)</sup> (132)VVAGVANALAHR <sup>(143)</sup>
Spot 10	16.17/8.74	HBB_OVIMU	255	52	(17)VKVDEVGAEALGR <sup>(29)</sup> (19)VDEVGAEALGR <sup>(29)</sup> (30)LLVVYPWTQR <sup>(39)</sup> (40)FFEHFGDLSSADAVMNNAK <sup>(58)</sup> (82)GTFAQLSELHCDK <sup>(94)</sup> (82)GTFAQLSELHCDKLVDPENFR <sup>(103)</sup> (132)VVAGVANALAHR <sup>(143)</sup>

Spot 11	16.07/6.75	HBBA_CAPHI	143	39	(17)VKVDEVGAEALGR <sup>(29)</sup> (19)VDEVGAEALGR <sup>(29)</sup> (40)FFEHFGLSSADAVMNNAK <sup>(58)</sup> (82)GTFAQLSELHCDK <sup>(94)</sup> (132)VVAGVANALHR <sup>(143)</sup>
---------	------------	------------	-----	----	--

---

*Troponin C, slow skeletal and cardiac muscles*

Spot 12	18.52/4.05	TNNC1_BOVIN	211	14	(91)GKSEEELSDLFR <sup>(102)</sup> (93)SEEELSDLFR <sup>(102)</sup> (148)IDYDEFLEFMK <sup>(158)</sup>
Spot 17	18.14/4.06	TNNC2_RABIT	314	39	(10)SYLSEEMIAEFK <sup>(21)</sup> (39)ELGTVMR <sup>(45)</sup> (90)GKSEEELAECFR <sup>(101)</sup> (92)SEEELAECFR <sup>(101)</sup> (106)NADGYIDAEELAEIFR <sup>(121)</sup> (122)ASGEHVTDEEIESLMK <sup>(137)</sup>

---

*Troponin C2, fast skeletal type*

Spot 13	18.26/4.06	G3MZK7_BOVIN	191	37	(12)SYLSEEMIAEFK <sup>(23)</sup> (24)AAFDMFDADGGDISVK <sup>(40)</sup> (108)NADGYIDAEELAEIFR <sup>(123)</sup> (124)ASGEHVTDEELESIMK <sup>(139)</sup>
---------	------------	--------------	-----	----	--

Spot 14	18.26/4.06	G3MZK7_BOVIN	79	7	(12)SYLSEEMIAEFK <sup>(23)</sup>
Spot 15	18.26/4.06	G3MZK7_BOVIN	378	27	(12)SYLSEEMIAEFK <sup>(23)</sup> (108)NADGYIDAEELAEIFR <sup>(123)</sup> (124)ASGEHVTDEELESIMK <sup>(139)</sup>
Spot 16	18.26/4.06	G3MZK7_BOVIN	284	27	(12)SYLSEEMIAEFK <sup>(23)</sup> (24)AAFDMPDADGGGDISVK <sup>(40)</sup> (108)NADGYIDAEELAEIFR <sup>(123)</sup>

---

*Myosin regulatory light chain 2, ventricular/cardiac muscle isoform*

Spot 19	18.97/4.86	MLRV_BOVIN	316	70	(31)EAFTIMDQNR <sup>(40)</sup> (41)DGFIDKNDLR <sup>(50)</sup> (59)VNVKNEEIDEMLK <sup>(71)</sup> (63)NEEIDEMLK <sup>(71)</sup> (72)EAPGPINFTVFLQMFGEK <sup>(89)</sup> (92)GADPEETILNAFK <sup>(104)</sup> (105)VFDPEGK <sup>(111)</sup> (121)EMLTTQAER <sup>(129)</sup> (130)FSKEEIDQMFAAFPDPVTGNLDYK <sup>(153)</sup> (154)NLVHIITHGEEK <sup>(165)</sup> (154)NLVHIITHGEEKD <sup>(166)</sup>
Spot 22	18.97/4.86	MLRV_BOVIN	192	38	(31)EAFTIMDQNR <sup>(40)</sup>

---

					(41)DGFIDKNDLR <sup>(50)</sup>
					(92)GADPEETILNAFK <sup>(104)</sup>
					(105)VFDPEGK <sup>(111)</sup>
					(121)EMLTTQAER <sup>(129)</sup>
					(154>NLVHIITHGEEKD <sup>(166)</sup>
<hr/>					
<i>Alpha-crystallin B chain</i>					
Spot 23	20.02/6.76	CRYAB_BOVIN	52	6	(93)VLGDVIEVHGK <sup>(103)</sup>
<hr/>					
<i>Hemoglobin subunit alpha</i>					
Spot 24	15.17/8.07	HBA_BOVIN	89	8	(129)FLANVSTVLTSK <sup>(140)</sup>
<hr/>					
<i>NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 10</i>					
Spot 25	21.23/8.74	NDUBA_BOVIN	34	7	(36)AFDLLVDRPVTLVR <sup>(49)</sup>
Spot 26	21.23/8.74	NDUBA_BOVIN	33	7	(36)AFDLLVDRPVTLVR <sup>(49)</sup>
<hr/>					
<i>Troponin I, fast skeletal muscle</i>					
Spot 27	21.37/8.86	TNNI2_RABIT	119	13	(20)SVMLQIAATELEKEEGR <sup>(36)</sup> (117)MSADAMLK <sup>(124)</sup>
Spot 28	21.37/8.86	TNNI2_RABIT	63	13	(20)SVMLQIAATELEKEEGR <sup>(36)</sup> (117)MSADAMLK <sup>(124)</sup>
<hr/>					
<i>Actin, aortic smooth muscle</i>					
Spot 32	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	91	12	(21)AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> (53)DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup>

Spot 63	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	95	12	<sup>(98)</sup> VAPEEHPTLLTEAPLNPK <sup>(115)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> <sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(53)</sup> DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> <sup>(241)</sup> SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup>
Spot 67	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	73	6	<sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> <sup>(241)</sup> SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup>
Spot 86	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	154	19	<sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(53)</sup> DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup> <sup>(98)</sup> VAPEEHPTLLTEAPLNPK <sup>(115)</sup> <sup>(241)</sup> SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup>
Spot 93	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	153	14	<sup>(318)</sup> EITALAPSTMK <sup>(328)</sup> <sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> <sup>(241)</sup> SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup>
Spot 94	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	64	4	<sup>(318)</sup> EITALAPSTMK <sup>(328)</sup> <sup>(241)</sup> SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup>
Spot 123	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	69	10	<sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>

---

<sup>(318)</sup>EITALAPSTMK<sup>(328)</sup><sup>(331)</sup>IIAPPER<sup>(337)</sup>

---

*Keratin, type II cytoskeletal 75*

Spot 35	57.69/7.57	A0A3Q1LSV1	71	2	<sup>(309)</sup> SLDLDSIIAEVK <sup>(320)</sup>
Spot 69	58.03/7.57	A0A3Q1LSV1	85	2	<sup>(309)</sup> SLDLDSIIAEVK <sup>(320)</sup>
Spot 70	58.03/7.57	A0A3Q1LSV1	60	2	<sup>(309)</sup> SLDLDSIIAEVK <sup>(320)</sup>
Spot 72	58.03/7.57	A0A3Q1LSV1	62	2	<sup>(309)</sup> SLDLDSIIAEVK <sup>(320)</sup>
Spot 74	58.03/7.57	A0A3Q1LSV1	74	2	<sup>(309)</sup> SLDLDSIIAEVK <sup>(320)</sup>
Spot 104	58.03/7.57	A0A3Q1LSV1	57	2	<sup>(309)</sup> SLDLDSIIAEVK <sup>(320)</sup>
Spot 106	58.03/7.57	A0A3Q1LSV1	67	2	<sup>(309)</sup> SLDLDSIIAEVK <sup>(320)</sup>
Spot 107	58.03/7.57	A0A3Q1LSV1	81	2	<sup>(309)</sup> SLDLDSIIAEVK <sup>(320)</sup>

---

*Troponin T, fast skeletal muscle*

Spot 36	32.11/5.99	TNNT3_BOVIN	58	5	<sup>(80)</sup> DLMELQALIDSHFEAR <sup>(95)</sup>
Spot 74	32.11/5.99	TNNT3_BOVIN	36	5	<sup>(159)</sup> ALSSMGANYSSYLAK <sup>(173)</sup>
Spot 79	32.11/5.99	TNNT3_BOVIN	49	5	<sup>(159)</sup> ALSSMGANYSSYLAK <sup>(173)</sup>

---

*Myosin light chain 6B*

Spot 37	23.50/5.40	Q148H2	229	22	<sup>(74)</sup> EAFELYDR <sup>(81)</sup>
					<sup>(87)</sup> IQFSQCGDVMR <sup>(97)</sup>
					<sup>(98)</sup> ALGQNPTNAEVLR <sup>(110)</sup>
					<sup>(164)</sup> VMGAELR <sup>(170)</sup>

---



					(171)HVLTTLGER <sup>(179)</sup>
<hr/>					
<i>ATP synthase subunit d, mitochondrial</i>					
Spot 39	18.73/5.99	ATP5H_BOVIN	42	6	(64)AGLVDDFEKK <sup>(73)</sup>
<hr/>					
<i>Heat shock protein beta-1</i>					
Spot 40	22.44/5.98	HSPB1_BOVIN	66	9	(29)LFDQAFGLPR <sup>(38)</sup> (111)DGVVEITGK <sup>(119)</sup>
Spot 46	22.44/5.98	HSPB1_BOVIN	156	17	(29)LFDQAFGLPR <sup>(38)</sup> (76)QLSSGVSEIQQTADR <sup>(90)</sup> (109)TKDGVVEITGK <sup>(119)</sup>
<hr/>					
<i>Keratin, type II cytoskeletal 5</i>					
Spot 41	63.07/7.62	K2C5_BOVIN	71	1	(333)SLDLDSIIAEVK <sup>(344)</sup>
Spot 50	63.07/7.62	K2C5_BOVIN	59	1	(333)SLDLDSIIAEVK <sup>(344)</sup>
<hr/>					
<i>Triosephosphate isomerase</i>					
Spot 42	26.90/6.45	TPIS_BOVIN	117	26	(60)IAVAAQNCYK <sup>(69)</sup> (70)VANGAFTGEISPGMIK <sup>(85)</sup> (161)VVLAYEPVWAIGTGK <sup>(175)</sup> (195)SNVSDAVAQSAR <sup>(206)</sup> (207)IYGGSVTGATCK <sup>(219)</sup>
Spot 43	26.90/6.45	TPIS_BOVIN	104	16	(195)SNVSDAVAQSAR <sup>(206)</sup> (207)IYGGSVTGATCK <sup>(219)</sup>

Spot 44	26.90/6.45	TPIS_BOVIN	222	28	<sup>(60)</sup> IAVAAQNCYK <sup>(69)</sup> <sup>(86)</sup> DLGATWVVLGHSER <sup>(99)</sup> <sup>(143)</sup> VVFEQTK <sup>(149)</sup> <sup>(161)</sup> VVLAYEPVWAIGTGK <sup>(175)</sup> <sup>(195)</sup> SNVSDAVAQSAR <sup>(206)</sup> <sup>(207)</sup> IYGGSVTGATCK <sup>(219)</sup>
Spot 45	26.90/6.45	TPIS_BOVIN	275	37	<sup>(60)</sup> IAVAAQNCYK <sup>(69)</sup> <sup>(70)</sup> VANGAFTGEISPGMIK <sup>(85)</sup> <sup>(143)</sup> VVFEQTK <sup>(149)</sup> <sup>(161)</sup> VVLAYEPVWAIGTGK <sup>(175)</sup> <sup>(195)</sup> SNVSDAVAQSAR <sup>(206)</sup> <sup>(207)</sup> IYGGSVTGATCK <sup>(219)</sup>
<hr/> <i>Carbonic anhydrase 3</i>					
Spot 47	29.64/7.71	CAH3_BOVIN	106	10	<sup>(68)</sup> VVFDDTYDR <sup>(76)</sup> <sup>(81)</sup> GGPLAAPYR <sup>(89)</sup> <sup>(127)</sup> YNSYATALK <sup>(135)</sup>
Spot 48	29.64/7.71	CAH3_BOVIN	164	17	<sup>(68)</sup> VVFDDTYDR <sup>(76)</sup> <sup>(81)</sup> GGPLAAPYR <sup>(89)</sup> <sup>(213)</sup> EPITVSSDQIAK <sup>(224)</sup> <sup>(227)</sup> TLYSSAENEPPVPLVR <sup>(242)</sup>

---

---

*Adenylate kinase isoenzyme 1*

Spot 49	21.76/8.40	KAD1_BOVIN	80	11	(10)IIFVVGGPGSGK <sup>(21)</sup> (156)ATEPVIAFYEK <sup>(166)</sup>
---------	------------	------------	----	----	---

---

*Phosphoglycerate mutase 2*

Spot 51	28.84/8.99	PGAM2_BOVIN	188	28	(11)HGESTWNQENR <sup>(21)</sup> (50)MEFDICYTSVLK <sup>(61)</sup> (91)HYGGLTGLNK <sup>(100)</sup> (118)SFDIPPPMDEK <sup>(129)</sup> (118)SFDIPPPMDEKHPYYK <sup>(134)</sup> (181)VLIAAHGNSLR <sup>(191)</sup> (232)FLGDEETVR <sup>(240)</sup> (232)FLGDEETVRK <sup>(241)</sup>
Spot 52	28.84/8.99	PGAM2_BOVIN	85	7	(181)VLIAAHGNSLR <sup>(191)</sup> (232)FLGDEETVR <sup>(240)</sup>
Spot 53	28.84/8.99	PGAM2_BOVIN	60	4	(181)VLIAAHGNSLR <sup>(191)</sup>
Spot 54	28.84/8.99	PGAM2_BOVIN	114	10	(147)AGELPTCESLKDTIAR <sup>(162)</sup> (181)VLIAAHGNSLR <sup>(191)</sup>

---

*ATP synthase subunit gamma, mitochondrial*

Spot 55	33.11/9.34	ATPG_BOVIN	116	7	(68)VYGVGSLALYEK <sup>(79)</sup> (116)SEAANLAAAGK <sup>(126)</sup>
---------	------------	------------	-----	---	---

---

<i>Phosphoglycerate mutase 1</i>					
Spot 56	28.95/6.67	PGAM1_BOVIN	65	4	<sup>(181)</sup> VLIAAHGNSLR <sup>(191)</sup>
<i>14-3-3 protein gamma</i>					
Spot 57	28.41/4.80	1433G_BOVIN	76	8	<sup>(133)</sup> YLAEVATGEK <sup>(142)</sup>
<i>Troponin T, slow skeletal muscle</i>					
Spot 58	31.27/5.71	TNNT1_BOVIN	56	5	<sup>(56)</sup> IPEGERVDFDDIHR <sup>(69)</sup>
Spot 110	31.27/5.71	TNNT1_BOVIN	135	12	<sup>(36)</sup> EEERPKPSRPVVPPLIPK <sup>(54)</sup>
					<sup>(55)</sup> IPEGERVDFDDIHR <sup>(68)</sup>
					<sup>(56)</sup> IPEGERVDFDDIHR <sup>(69)</sup>
<i>Tropomyosin alpha-1 chain</i>					
Spot 59	32.73/4.69	TPM1_BOVIN	518	36	<sup>(36)</sup> SKQLEDELVSLQK <sup>(48)</sup>
					<sup>(38)</sup> QLEDELVSLQK <sup>(48)</sup>
					<sup>(52)</sup> ATEDELDKYSEALK <sup>(65)</sup>
					<sup>(66)</sup> DAQEKLELAEK <sup>(76)</sup>
					<sup>(77)</sup> KATDAEADVASLNR <sup>(90)</sup>
					<sup>(78)</sup> ATDAEADVASLNR <sup>(90)</sup>
					<sup>(91)</sup> RIQLVEEELDR <sup>(101)</sup>
					<sup>(92)</sup> IQLVEEELDR <sup>(101)</sup>
					<sup>(141)</sup> MEIQEIQLK <sup>(149)</sup>
					<sup>(168)</sup> KLVIIESDLER <sup>(178)</sup>

Spot 61	32.73/4.69	TPM1_BOVIN	641	37	<sup>(169)</sup> LVIIESDLER <sup>(178)</sup> <sup>(190)</sup> CAELEEEELK <sup>(198)</sup> <sup>(252)</sup> SIDDLEDELYAQK <sup>(264)</sup> <sup>(13)</sup> LDKENALDR <sup>(21)</sup> <sup>(36)</sup> SKQLEDELVSLQK <sup>(48)</sup> <sup>(38)</sup> QLEDELVSLQK <sup>(48)</sup> <sup>(52)</sup> ATEDELDKYSEALK <sup>(65)</sup> <sup>(77)</sup> KATDAEADVASLNR <sup>(90)</sup> <sup>(78)</sup> ATDAEADVASLNR <sup>(90)</sup> <sup>(91)</sup> RIQLVEEELDR <sup>(101)</sup> <sup>(92)</sup> IQLVEEELDR <sup>(101)</sup> <sup>(113)</sup> LEEAEKAADESER <sup>(125)</sup> <sup>(141)</sup> MEIQEIQLK <sup>(149)</sup> <sup>(168)</sup> KLVIIESDLER <sup>(178)</sup> <sup>(169)</sup> LVIIESDLER <sup>(178)</sup> <sup>(190)</sup> CAELEEEELK <sup>(198)</sup> <sup>(252)</sup> SIDDLEDELYAQK <sup>(264)</sup> <sup>(13)</sup> LDKENALDR <sup>(21)</sup> <sup>(38)</sup> QLEDELVSLQK <sup>(48)</sup> <sup>(52)</sup> ATEDELDKYSEALK <sup>(65)</sup>
Spot 62	32.73/4.69	TPM1_BOVIN	414	38	<sup>(13)</sup> LDKENALDR <sup>(21)</sup> <sup>(38)</sup> QLEDELVSLQK <sup>(48)</sup> <sup>(52)</sup> ATEDELDKYSEALK <sup>(65)</sup>

---

<sup>(77)</sup>KATDAEADVASLNR<sup>(90)</sup>  
<sup>(78)</sup>ATDAEADVASLNR<sup>(90)</sup>  
<sup>(78)</sup>ATDAEADVASLNR<sup>(91)</sup>  
<sup>(91)</sup>RIQLVEEELDR<sup>(101)</sup>  
<sup>(92)</sup>IQLVEEELDR<sup>(101)</sup>  
<sup>(106)</sup>LATALQKLEEAEK<sup>(118)</sup>  
<sup>(168)</sup>KLVIIESDLER<sup>(178)</sup>  
<sup>(169)</sup>LVIIIESDLER<sup>(178)</sup>  
<sup>(190)</sup>CAELEEEELK<sup>(198)</sup>  
<sup>(252)</sup>SIDDLEDELYAQK<sup>(264)</sup>

---

*Tropomyosin beta chain*

Spot 59	32.93/4.66	TPM2_BOVIN	241	12	<sup>(77)</sup> KATDAEADVASLNR <sup>(90)</sup> <sup>(78)</sup> ATDAEADVASLNR <sup>(90)</sup> <sup>(91)</sup> RIQLVEEELDR <sup>(101)</sup> <sup>(92)</sup> IQLVEEELDR <sup>(101)</sup> <sup>(169)</sup> LVILEGELER <sup>(178)</sup>
Spot 62	32.93/4.66	TPM2_BOVIN	511	34	<sup>(13)</sup> LDKENALDR <sup>(21)</sup> <sup>(52)</sup> ATEDELDKYSEALK <sup>(65)</sup> <sup>(60)</sup> YSESVKDAQEK <sup>(70)</sup> <sup>(77)</sup> KATDAEADVASLNR <sup>(90)</sup>

Spot 85	32.93/4.66	TPM2_BOVIN	307	28	(78)ATDAEADVASLNR <sup>(90)</sup>
					(78)ATDAEADVASLNR <sup>(91)</sup>
					(91)RIQLVEEELDR <sup>(101)</sup>
					(92)IQLVEEELDR <sup>(101)</sup>
					(106)LATALQKLEEAEK <sup>(118)</sup>
					(168)KLVIIESDLER <sup>(178)</sup>
					(169)LVIIESDLER <sup>(178)</sup>
					(190)CAELEEEELK <sup>(198)</sup>
					(252)SIDDLEDELYAQK <sup>(264)</sup>
					(13)LDKENALDR <sup>(21)</sup>
					(78)ATDAEADVASLNR <sup>(90)</sup>
					(92)IQLVEEELDR <sup>(101)</sup>
					(106)LATALQKLEEAEK <sup>(118)</sup>
(168)KLVIIESDLER <sup>(178)</sup>					
(169)LVIIESDLER <sup>(178)</sup>					
(206)SLEAQADKYSTK <sup>(217)</sup>					
(252)SIDDLEDELYAQK <sup>(264)</sup>					
<hr/>					
<i>Tropomyosin alpha-3 chain</i>					
Spot 59	32.87/4.68	TPM3_BOVIN	131	15	(66)DAQEKLELAEK <sup>(76)</sup>
					(91)RIQLVEEELDR <sup>(101)</sup>

Spot 62	32.87/4.68	TPM3_BOVIN	237	21	<sup>(92)</sup> IQLVEEELDR <sup>(101)</sup> <sup>(141)</sup> MEIQEIQLK <sup>(149)</sup> <sup>(252)</sup> SIDDLEDELYAQK <sup>(264)</sup> <sup>(13)</sup> LDKENALDR <sup>(21)</sup> <sup>(91)</sup> RIQLVEEELDR <sup>(101)</sup> <sup>(92)</sup> IQLVEEELDR <sup>(101)</sup> <sup>(106)</sup> LATALQKLEEAEK <sup>(118)</sup> <sup>(252)</sup> SIDDLEDELYAQK <sup>(264)</sup> <sup>(269)</sup> AISEELDHALNDMTSI <sup>(284)</sup>
<i>Creatine kinase M-type</i>					
Spot 60	43.19/6.63	KCRM_BOVIN	41	1	<sup>(308)</sup> FEEILTR <sup>(314)</sup>
Spot 71	43.19/6.63	KCRM_BOVIN	128	11	<sup>(224)</sup> SFLVWVNEEDHLR <sup>(236)</sup> <sup>(320)</sup> RGTGGVDTAAVGSVFDVSNADR <sup>(341)</sup>
Spot 73	43.19/6.63	KCRM_BOVIN	49	1	<sup>(308)</sup> FEEILTR <sup>(314)</sup>
Spot 105	43.19/6.63	KCRM_BOVIN	48	3	<sup>(33)</sup> ALTLEIYK <sup>(40)</sup> <sup>(308)</sup> FEEILTR <sup>(314)</sup>
Spot 108	43.19/6.63	KCRM_BOVIN	107	9	<sup>(87)</sup> DLFDPIIQDR <sup>(96)</sup> <sup>(117)</sup> GGDDLDPHYVLSSR <sup>(130)</sup> <sup>(224)</sup> SFLVWVNEEDHLR <sup>(236)</sup>
Spot 115	43.19/6.63	KCRM_BOVIN	73	7	<sup>(87)</sup> DLFDPIIQDR <sup>(96)</sup>



<sup>(117)</sup>GGDDLDPHYVLSSR<sup>(130)</sup>

---

*Actin, alpha cardiac muscle 1*

Spot 60            42.33/5.23      ACTC\_BOVIN      130      10

<sup>(53)</sup>DSYVGDEAQSK<sup>(63)</sup>

<sup>(241)</sup>SYELPDGQVITIGNER<sup>(256)</sup>

<sup>(362)</sup>QEYDEAGPSIVHR<sup>(374)</sup>

Spot 84            42.33/5.23      ACTC\_BOVIN      194      24

<sup>(21)</sup>AGFAGDDAPR<sup>(30)</sup>

<sup>(53)</sup>DSYVGDEAQSK<sup>(63)</sup>

<sup>(98)</sup>VAPEEHPTLLTEAPLNPK<sup>(115)</sup>

<sup>(199)</sup>GYSFVTTAER<sup>(208)</sup>

<sup>(241)</sup>SYELPDGQVITIGNER<sup>(256)</sup>

<sup>(318)</sup>EITALAPSTMK<sup>(328)</sup>

<sup>(331)</sup>IIAPPER<sup>(337)</sup>

<sup>(362)</sup>QEYDEAGPSIVHR<sup>(374)</sup>

Spot 87            42.33/5.23      ACTC\_BOVIN      375      32

<sup>(21)</sup>AGFAGDDAPR<sup>(30)</sup>

<sup>(53)</sup>DSYVGDEAQSKR<sup>(64)</sup>

<sup>(87)</sup>IWHHTFYNELR<sup>(97)</sup>

<sup>(98)</sup>VAPEEHPTLLTEAPLNPK<sup>(115)</sup>

<sup>(150)</sup>TTGIVLDSGDGVTHNVPIYEGYALPHAIMR<sup>(179)</sup>

<sup>(199)</sup>GYSFVTTAER<sup>(208)</sup>

<sup>(318)</sup>EITALAPSTMK<sup>(328)</sup>

Spot 88	42.33/5.23	ACTC_BOVIN	301	36	<sup>(331)</sup> IIAPPER <sup>(337)</sup> <sup>(362)</sup> QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup> <sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(53)</sup> DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup> <sup>(87)</sup> IWHHTFYNELR <sup>(97)</sup> <sup>(98)</sup> VAPEEHPTLLTEAPLNPK <sup>(115)</sup> <sup>(150)</sup> TTGIVLDSGDGVTHNVPIYEGYALPHAIMR <sup>(179)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> <sup>(241)</sup> SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup> <sup>(318)</sup> EITALAPSTMK <sup>(328)</sup> <sup>(331)</sup> IIAPPER <sup>(337)</sup> <sup>(362)</sup> QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup> <sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(53)</sup> DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup> <sup>(98)</sup> VAPEEHPTLLTEAPLNPK <sup>(115)</sup> <sup>(150)</sup> TTGIVLDSGDGVTHNVPIYEGYALPHAIMR <sup>(179)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> <sup>(318)</sup> EITALAPSTMK <sup>(328)</sup> <sup>(331)</sup> IIAPPER <sup>(337)</sup> <sup>(362)</sup> QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup>
Spot 92	42.33/5.23	ACTC_BOVIN	318	32	<sup>(331)</sup> IIAPPER <sup>(337)</sup> <sup>(362)</sup> QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup> <sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(53)</sup> DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup> <sup>(98)</sup> VAPEEHPTLLTEAPLNPK <sup>(115)</sup> <sup>(150)</sup> TTGIVLDSGDGVTHNVPIYEGYALPHAIMR <sup>(179)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> <sup>(318)</sup> EITALAPSTMK <sup>(328)</sup> <sup>(331)</sup> IIAPPER <sup>(337)</sup> <sup>(362)</sup> QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup>

Spot 103	42.33/5.23	ACTC_BOVIN	91	10	(53)DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup> (241)SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup> (362)QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup>
----------	------------	------------	----	----	--

---

*Actin, alpha skeletal muscle*

Spot 64	42.37/5.23	ACTS_BOVIN	1170	39	(21)AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> (42)HQGVMVGMGQK <sup>(52)</sup> (53)DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup> (53)DSYVGDEAQSKR <sup>(64)</sup> (98)VAPEEHPTLLTEAPLNPk <sup>(115)</sup> (150)TTGIVLDSGDGVTHNVPIYEGYALPHAIMR <sup>(179)</sup> (241)SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup> (293)KDLYANNVMSGGTTMYPGIADR <sup>(314)</sup> (294)DLYANNVMSGGTTMYPGIADR <sup>(314)</sup> (318)EITALAPSTMK <sup>(328)</sup> (331)IIAPPER <sup>(337)</sup> (362)QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup>
Spot 90	42.37/5.23	ACTS_BOVIN	1668	57	(21)AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> (42)HQGVMVGMGQK <sup>(52)</sup> (53)DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup> (53)DSYVGDEAQSKR <sup>(64)</sup>

---

<sup>(87)</sup>IWHHTFYNELR<sup>(97)</sup><sup>(98)</sup>VAPEEHPTLLTEAPLNPK<sup>(115)</sup><sup>(150)</sup>TTGIVLDSGDGVTHNVPIYEGYALPHAIMR<sup>(179)</sup><sup>(216)</sup>EKLCYVALDFENEMATAASSSSLEK<sup>(240)</sup><sup>(218)</sup>LCYVALDFENEMATAASSSSLEK<sup>(240)</sup><sup>(241)</sup>SYELPDGQVITIGNER<sup>(256)</sup><sup>(257)</sup>FRCPETLFQPSFIGMESAGIHETTYNSIMK<sup>(286)</sup><sup>(259)</sup>CPETLFQPSFIGMESAGIHETTYNSIMK<sup>(286)</sup><sup>(293)</sup>KDLYANNVMSGGTTMYPGIADR<sup>(314)</sup><sup>(294)</sup>DLYANNVMSGGTTMYPGIADR<sup>(314)</sup><sup>(318)</sup>EITALAPSTMK<sup>(328)</sup><sup>(331)</sup>IIAPPER<sup>(337)</sup><sup>(362)</sup>QEYDEAGPSIVHR<sup>(374)</sup>

---

*Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta, mitochondrial*

Spot 65            39.44/6.21        ODPB\_BOVIN        61            6

<sup>(174)</sup>VVSPWSEDAK<sup>(184)</sup><sup>(259)</sup>EGIECEVINLR<sup>(269)</sup>

Spot 66	39.44/6.21	ODPB_BOVIN	171	19	(53)VFLLGEEVAQYDGAYK <sup>(68)</sup> (130)TYMSGGLQSVPIVFR <sup>(145)</sup> (174)VVSPWSEDAK <sup>(184)</sup> (259)EGIECEVINLR <sup>(269)</sup> (309)IMEGPAFNFLDAPAVR <sup>(324)</sup>
<hr/> <i>Malate dehydrogenase, cytoplasmic</i>					
Spot 68	36.70/6.16	MDHC_BOVIN	51	5	(171)LGVTSDDVK <sup>(179)</sup> (221)GEFITTVQQR <sup>(230)</sup>
<hr/> <i>Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase</i>					
Spot 75	36.07/8.50	G3P_BOVIN	174	18	(199)GAAQNIIPASTGAAK <sup>(213)</sup> (71)AITIFQER <sup>(78)</sup> (226)LTGMAFR <sup>(232)</sup> (233)VPTPNVSVVDLTCR <sup>(246)</sup> (308)LISWYDNEFGYSNR <sup>(321)</sup> (322)VVDLMVHMASK <sup>(332)</sup>
Spot 77	36.07/8.50	G3P_BOVIN	203	16	(226)LTGMAFR <sup>(232)</sup> (233)VPTPNVSVVDLTCR <sup>(246)</sup> (308)LISWYDNEFGYSNR <sup>(321)</sup> (322)VVDLMVHMASK <sup>(332)</sup>
Spot 78	36.07/8.50	G3P_BOVIN	80	15	(226)LTGMAFR <sup>(232)</sup>

Spot 82	36.07/8.50	G3P_BOVIN	59	4	(233)VPTPNVSVVDLTCR <sup>(246)</sup> (322)VVDLMVHMASK <sup>(332)</sup> (71)AITIFQR <sup>(78)</sup> (226)LTGMAFR <sup>(232)</sup>
<i>Malate dehydrogenase, mitochondrial</i>					
Spot 76	36.10/8.82	MDHM_BOVIN	108	15	(53)LTLYDIAHTPGVAADLSHIETR <sup>(74)</sup> (177)ANAFVAELK <sup>(185)</sup> (270)EGVVECSFVK <sup>(279)</sup> (315)MIAEAIPELK <sup>(324)</sup>
<i>L-lactate dehydrogenase A chain</i>					
Spot 81	36.95/8.16	LDHA_BOSMU	80	2	(91)LVIITAGAR <sup>(99)</sup>
<i>Fructose-bisphosphate aldolase</i>					
Spot 83	40.02/8.60	A0A3Q1LMG1	66	4	(245)YSHEEIAMATVTALR <sup>(259)</sup>
Spot 116	40.02/8.60	A0A3Q1LMG1	67	3	(29)GILAADESTGSIK <sup>(42)</sup>
Spot 117	40.02/8.60	A0A3Q1LMG1	91	3	(29)GILAADESTGSIK <sup>(42)</sup>
Spot 119	40.02/8.60	A0A3Q1LMG1	280	22	(29)GILAADESTGSIK <sup>(42)</sup> (88)GILAADESTGSIK <sup>(99)</sup> (155)IGEHTPSSLAIMENANVLAR <sup>(174)</sup> (245)YSHEEIAMATVTALR <sup>(259)</sup> (324)AAQEEYVKR <sup>(332)</sup>

Spot 120	40.02/8.60	A0A3Q1LMG1	105	11	(333)ALANSLACQGK <sup>(343)</sup> (29)GILAADESTGSIAK <sup>(42)</sup> (88)GILAADESTGSIAK <sup>(99)</sup> (245)YSHEEIAMATVTALR <sup>(259)</sup>
<i>Cytochrome b-c1 complex subunit 1, mitochondrial</i>					
Spot 89	53.44/5.94	QCR1_BOVIN	67	3	(229)MVLAAAGGLEHR <sup>(240)</sup>
Spot 102	53.44/5.94	QCR1_BOVIN	277	7	(214)ADLTEYLSR <sup>(222)</sup> (229)MVLAAAGGLEHR <sup>(240)</sup> (423)RIPLAEWESR <sup>(432)</sup> (433)IAEVDAR <sup>(439)</sup>
<i>ATP synthase subunit beta, mitochondrial</i>					
Spot91	56.25/5.15	ATPB_BOVIN	622	21	(95)LVLEVAQHLGESTVR <sup>(109)</sup> (110)TIAMDGTEGLVR <sup>(121)</sup> (125)VLDSGAPIR <sup>(133)</sup> (144)IMNVIGEPIDER <sup>(155)</sup> (226)AHGGYSVFAGVGER <sup>(239)</sup> (265)VALVYGQMNEPPGAR <sup>(279)</sup> (388)AIAELGIYPAVDPLDSTSR <sup>(406)</sup> (407)IMDPNIVGSEHYDVAR <sup>(422)</sup>
<i>Albumin</i>					

Spot 95	71.14/5.80	ALBU_SHEEP	96	7	<sup>(257)</sup> IVTDLTK <sup>(263)</sup> <sup>(402)</sup> HLVDEPQNLIK <sup>(412)</sup> <sup>(421)</sup> HGEYGFQNALIVR <sup>(433)</sup> <sup>(437)</sup> KAPQVSTPTLVEISR <sup>(451)</sup>
Spot 97	71.14/5.80	ALBU_SHEEP	174	11	<sup>(257)</sup> IVTDLTK <sup>(263)</sup> <sup>(286)</sup> YICDHQDALSSK <sup>(297)</sup> <sup>(402)</sup> HLVDEPQNLIK <sup>(412)</sup> <sup>(421)</sup> HGEYGFQNALIVR <sup>(433)</sup> <sup>(437)</sup> KAPQVSTPTLVEISR <sup>(451)</sup> <sup>(499)</sup> CCTESLVNR <sup>(507)</sup> <sup>(89)</sup> SLHTLFGDELCK <sup>(100)</sup> <sup>(139)</sup> LKPEPDTLCAEFK <sup>(151)</sup> <sup>(161)</sup> YLYEVAR <sup>(167)</sup> <sup>(257)</sup> IVTDLTK <sup>(263)</sup> <sup>(286)</sup> YICDHQDALSSK <sup>(297)</sup> <sup>(298)</sup> YICDHQDALSSK <sup>(309)</sup> <sup>(347)</sup> DVFLGSFLYEYSR <sup>(359)</sup> <sup>(402)</sup> HLVDEPQNLIK <sup>(412)</sup> <sup>(421)</sup> HGEYGFQNALIVR <sup>(433)</sup> <sup>(437)</sup> KAPQVSTPTLVEISR <sup>(451)</sup>
Spot 98	71.14/5.80	ALBU_SHEEP	297	22	<sup>(89)</sup> SLHTLFGDELCK <sup>(100)</sup> <sup>(139)</sup> LKPEPDTLCAEFK <sup>(151)</sup> <sup>(161)</sup> YLYEVAR <sup>(167)</sup> <sup>(257)</sup> IVTDLTK <sup>(263)</sup> <sup>(286)</sup> YICDHQDALSSK <sup>(297)</sup> <sup>(298)</sup> YICDHQDALSSK <sup>(309)</sup> <sup>(347)</sup> DVFLGSFLYEYSR <sup>(359)</sup> <sup>(402)</sup> HLVDEPQNLIK <sup>(412)</sup> <sup>(421)</sup> HGEYGFQNALIVR <sup>(433)</sup> <sup>(437)</sup> KAPQVSTPTLVEISR <sup>(451)</sup>



Spot 99	71.14/5.80	ALBU_SHEEP	73	4	(499)CCTESLVNR <sup>(507)</sup> (569)TVMENFVAFVDK <sup>(580)</sup> (421)HGEYGFQNALIVR <sup>(433)</sup> (437)KAPQVSTPTLVEISR <sup>(451)</sup>
Spot 112	71.14/5.80	ALBU_SHEEP	73	4	(421)HGEYGFQNALIVR <sup>(433)</sup> (437)KAPQVSTPTLVEISR <sup>(451)</sup>
<i>NADH-ubiquinone oxidoreductase 75 kDa subunit, mitochondrial</i>					
Spot 96	80.42/5.82	NDUS1_BOVIN	78	2	(409)FEAPLFNAR <sup>(417)</sup> (593)SATYVNTEGR <sup>(602)</sup>
<i>Keratin, type I cytoskeletal</i>					
Spot 100	54.98/5.05	KC10_BOVIN	129	4	(344)SEITELR <sup>(350)</sup>
Spot 118	54.98/5.05	KC10_BOVIN	46	1	(344)SEITELR <sup>(350)</sup>
<i>Desmin</i>					
Spot 101	55.56	DESM_BOVIN	208	8	(59)TSGGAGGLGALR <sup>(70)</sup> (151)VAEIYEEELR <sup>(160)</sup> (229)IESLNEEIAFLK <sup>(240)</sup> (408)LLEGEESR <sup>(415)</sup>
<i>Beta enolase</i>					
Spot 109	47.41/7.60	ENOB_BOVIN	48	4	(184)IGAENVYHHLK <sup>(193)</sup> (229)TAIQAAGYPPDK <sup>(239)</sup>

Spot 114	47.41/7.60	ENOB_BOVIN	197	18	<sup>(33)</sup> AAVPSGASTGIYEALRLR <sup>(50)</sup> <sup>(81)</sup> KLSVVDQEK <sup>(89)</sup> <sup>(82)</sup> LSVVDQEK <sup>(89)</sup> <sup>(93)</sup> FMIELDGTENK <sup>(103)</sup> <sup>(184)</sup> IGAENVYHHLK <sup>(193)</sup> <sup>(229)</sup> TAIQAAGYPDK <sup>(239)</sup> <sup>(359)</sup> LAQSNWGWVMVSHR <sup>(372)</sup> <sup>(413)</sup> IEEALGDK <sup>(420)</sup>
<i>Pyruvate kinase</i>					
Spot 113	58.48/7.96	A5D984	98	8	<sup>(33)</sup> LDIDSPITAR <sup>(43)</sup> <sup>(44)</sup> NTGIICTIGPASR <sup>(56)</sup> <sup>(295)</sup> GDLGIEIPA EK <sup>(305)</sup> <sup>(368)</sup> GDYPLEAVR <sup>(376)</sup>
<i>Aspartate aminotransferase, mitochondrial</i>					
Spot 121	47.88/9.19	AATM_BOVIN	184	12	<sup>(126)</sup> YVTVQTISGTGALR <sup>(139)</sup> <sup>(171)</sup> DAGMQLQSYR <sup>(180)</sup> <sup>(280)</sup> NMGLYGER <sup>(287)</sup> <sup>(288)</sup> VGAFTVVCK <sup>(296)</sup> <sup>(326)</sup> IASTILTSPDLR <sup>(337)</sup>
Spot 122	47.88/9.19	AATM_BOVIN	200	10	<sup>(126)</sup> YVTVQTISGTGALR <sup>(139)</sup>

<sup>(288)</sup>VGAFVVCK<sup>(296)</sup><sup>(326)</sup>IASTILTSPDLR<sup>(337)</sup>


---

 Proteínas do músculo *Longissimus thoracis* de borregos Somalis Brasileira.
 

---

*Myosin light chain 1/3, skeletal muscle isoform*

Spot 01	21.03/4.96	MYL1_BOVIN	91	17	<sup>(79)</sup> ALGTNPTNAEVK <sup>(90)</sup> <sup>(79)</sup> ALGTNPTNAEVKK <sup>(91)</sup> <sup>(140)</sup> EGNGTVMGAELR <sup>(151)</sup> <sup>(152)</sup> HVLATLGEK <sup>(160)</sup>
Spot 24	21.03/4.96	MYL1_BOVIN	326	33	<sup>(9)</sup> KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPK <sup>(32)</sup> <sup>(9)</sup> KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPK <sup>(35)</sup> <sup>(79)</sup> ALGTNPTNAEVK <sup>(90)</sup> <sup>(79)</sup> ALGTNPTNAEVKK <sup>(91)</sup> <sup>(136)</sup> VFDKEGNGTVMGAELR <sup>(151)</sup> <sup>(140)</sup> EGNGTVMGAELR <sup>(151)</sup> <sup>(152)</sup> HVLATLGEK <sup>(160)</sup>
Spot 26	21.03/4.96	MYL1_BOVIN	578	64	<sup>(9)</sup> KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPK <sup>(32)</sup> <sup>(9)</sup> KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPK <sup>(35)</sup> <sup>(79)</sup> ALGTNPTNAEVK <sup>(90)</sup> <sup>(79)</sup> ALGTNPTNAEVKK <sup>(91)</sup> <sup>(105)</sup> KIEFEQFLPMLQAISNNK <sup>(122)</sup>

					(123)DQGTIEDFVEGLR <sup>(135)</sup>
					(136)VFDKEGNGTVMGAELR <sup>(151)</sup>
					(140)EGNGTVMGAELR <sup>(151)</sup>
					(152)HVLATLGEK <sup>(160)</sup>
Spot 27	21.03/4.96	MYL1_BOVIN	330	40	(161)MKEEEVEALMAGQEDSNGCINYEAFVK <sup>(187)</sup>
					(9)KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPK <sup>(32)</sup>
					(9)KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPKEEK <sup>(35)</sup>
					(79)ALGTNPTNAEVK <sup>(90)</sup>
					(79)ALGTNPTNAEVKK <sup>(91)</sup>
					(123)DQGTIEDFVEGLR <sup>(135)</sup>
					(136)VFDKEGNGTVMGAELR <sup>(151)</sup>
					(140)EGNGTVMGAELR <sup>(151)</sup>
					(152)HVLATLGEK <sup>(160)</sup>
Spot 28	21.03/4.96	MYL1_BOVIN	107	27	(9)KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPKEEK <sup>(35)</sup>
					(136)VFDKEGNGTVMGAELR <sup>(151)</sup>
					(152)HVLATLGEK <sup>(160)</sup>
<hr/>					
<i>Myosin light polypeptide 6</i>					
Spot 02	17.09/4.56	MYL6_BOVIN	199	16	(95)VFDKEGNGTVMGAELR <sup>(110)</sup>
					(99)EGNGTVMGAELR <sup>(110)</sup>
					(111)HVLVTLGEK <sup>(119)</sup>

Spot 25	17.09/4.56	MYL6_BOVIN	61	16	( <sup>95</sup> )VFDKEGNGTVMGAEIR( <sup>110</sup> ) ( <sup>99</sup> )EGNGTVMGAEIR( <sup>110</sup> ) ( <sup>111</sup> )HVLVTLGEK( <sup>119</sup> )
<i>Myosin regulatory light chain 2, skeletal muscle isoform</i>					
Spot 03	19.11/4.91	MLRS_BOVIN	39	4	( <sup>53</sup> )DTFAAMGR( <sup>60</sup> )
Spot 14	18.84/4.67	A0A452DJW7	294	33	( <sup>32</sup> )EAFTVIDQNR( <sup>41</sup> ) ( <sup>42</sup> )DGIIDKEDLR( <sup>51</sup> ) ( <sup>52</sup> )DTFAAMGR( <sup>59</sup> ) ( <sup>60</sup> )LNVKNEELDAMMK( <sup>72</sup> ) ( <sup>64</sup> )NEELDAMMK( <sup>72</sup> ) ( <sup>91</sup> )LKGADPEDVITGAFK( <sup>105</sup> ) ( <sup>93</sup> )GADPEDVITGAFK( <sup>105</sup> )
Spot 16	19.11/4.91	MLRS_BOVIN	104	18	( <sup>43</sup> )DGIIDKEDLR( <sup>52</sup> ) ( <sup>53</sup> )DTFAAMGR( <sup>60</sup> ) ( <sup>94</sup> )GADPEDVITGAFK( <sup>106</sup> )
Spot 18	19.11/4.91	MLRS_BOVIN	52	10	( <sup>43</sup> )DGIIDKEDLR( <sup>52</sup> ) ( <sup>53</sup> )DTFAAMGR( <sup>60</sup> )
Spot 19	18.84/4.67	A0A452DJW7	242	25	( <sup>32</sup> )EAFTVIDQNR( <sup>41</sup> ) ( <sup>42</sup> )DGIIDKEDLR( <sup>51</sup> ) ( <sup>52</sup> )DTFAAMGR( <sup>59</sup> )

<sup>(91)</sup>LKGADPEDVITGAFK<sup>(105)</sup><sup>(93)</sup>GADPEDVITGAFK<sup>(105)</sup>

---

*Cytochrome c oxidase subunit 5A, mitochondrial*

Spot 04            16.90/6.42        COX5A\_BOVIN        105        32

<sup>(58)</sup>WVTYFNKPDIDAWELR<sup>(73)</sup><sup>(74)</sup>KGMNTLVGYDLVPEPK<sup>(89)</sup><sup>(75)</sup>GMNTLVGYDLVPEPK<sup>(89)</sup><sup>(100)</sup>RLNDFASAVR<sup>(109)</sup><sup>(110)</sup>ILEVVKDK<sup>(117)</sup>

---

*Hemoglobin subunit beta*

Spot 05            16.12/6.75        HBB\_SHEEP        169        44

<sup>(8)</sup>AAVTGFWGK<sup>(16)</sup><sup>(17)</sup>VKVDEVGAEALGR<sup>(29)</sup><sup>(30)</sup>LLVVYPWTQR<sup>(39)</sup><sup>(95)</sup>LHVDPENFR<sup>(103)</sup><sup>(104)</sup>LLGNVLVVVLAR<sup>(115)</sup><sup>(132)</sup>VVAGVANALAHK<sup>(143)</sup>

Spot 06            16.17/8.74        HBB\_OVIMU        166        37

<sup>(17)</sup>VKVDEVGAEALGR<sup>(29)</sup><sup>(40)</sup>FFEHFGDLSSADAVMNNAK<sup>(58)</sup><sup>(82)</sup>GTFAQLSELHCDK<sup>(94)</sup><sup>(82)</sup>GTFAQLSELHCDKLVHVPQDFR<sup>(103)</sup>

Spot 07            16.12/6.75        HBB\_SHEEP        164        25

<sup>(17)</sup>VKVDEVGAEALGR<sup>(29)</sup>

Spot 08	16.12/6.75	HBB_SHEEP	165	19	(104)LLGNVLVVVLAR <sup>(115)</sup> (132)VVAGVANALAHK <sup>(143)</sup> (17)VKVDEVGAEALGR <sup>(29)</sup> (104)LLGNVLVVVLAR <sup>(115)</sup>
<i>Troponin C, skeletal muscle</i>					
Spot 09	18.14/4.06	TNNC2_RABIT	285	35	(10)SYLSEEMIAEFK <sup>(21)</sup> (90)GKSEEELAECFR <sup>(101)</sup> (106)NADGYIDAEELAEIFR <sup>(121)</sup> (122)ASGEHVTDEEIESLNK <sup>(137)</sup>
<i>Troponin C2, fast skeletal type</i>					
Spot 10	18.31/4.06	G3MZK7	164	7	(12)SYLSEEMIAEFK <sup>(23)</sup>
Spot 11	18.31/4.06	G3MZK7	455	41	(12)SYLSEEMIAEFK <sup>(23)</sup> (24)AAFDMPDADGGGDISVK <sup>(40)</sup> (41)ELGTVMR <sup>(47)</sup> (108)NADGYIDAEELAEIFR <sup>(123)</sup> (124)ASGEHVTDEELESIMK <sup>(139)</sup>
Spot 12	18.31/4.06	G3MZK7	116	17	(12)SYLSEEMIAEFK <sup>(23)</sup> (108)NADGYIDAEELAEIFR <sup>(123)</sup>
<i>ATP synthase subunit delta, mitochondrial</i>					
Spot 13	17.60/5.20	ATPD_BOVIN	142	8	(137)AQSELLGADEATR <sup>(150)</sup>

---

*Myosin regulatory light chain 2, ventricular/cardiac muscle isoform*

Spot 15	18.97/4.86	MLRV_BOVIN	146	22	(41)DGFIDKNDLR <sup>(50)</sup> (59)VNVKNEEIDEMLK <sup>(71)</sup> (63)NEEIDEMLK <sup>(71)</sup> (90)LKGADPEETILNAFK <sup>(104)</sup> (92)GADPEETILNAFK <sup>(104)</sup>
Spot 17	18.97/4.86	MLRV_BOVIN	113	37	(41)DGFIDKNDLR <sup>(50)</sup> (63)NEEIDEMLK <sup>(71)</sup> (72)EAPGPINFVFLQMFGKK <sup>(89)</sup> (92)GADPEETILNAFK <sup>(104)</sup> (154)NLVHIITHGEEKD <sup>(166)</sup>

---

*Myoglobin*

Spot 20	16.95/7.23	MYG_CAPHI	400	35	(18)VEADVAGHGQEVLR <sup>(32)</sup> (33)LFTGHPETLEK <sup>(43)</sup> (65)HGNTVLTALGGILK <sup>(78)</sup> (120)HPSDFGADAQGAMSK <sup>(134)</sup>
Spot 21	16.95/7.23	MYG_CAPHI	279	38	(18)VEADVAGHGQEVLR <sup>(32)</sup> (65)HGNTVLTALGGILK <sup>(78)</sup> (104)YLEFISDAIIHVLHAK <sup>(119)</sup> (120)HPSDFGADAQGAMSK <sup>(134)</sup>



Spot 22	16.95/7.23	MYG_CAPHI	479	53	(18)VEADVAGHGQEVLR <sup>(32)</sup> (33)LFTGHPETLEK <sup>(43)</sup> (65)HGNTVLTALGGILK <sup>(78)</sup> (65)HGNTVLTALGGILKK <sup>(79)</sup> (104)YLEFISDAIIHVLHAK <sup>(119)</sup> (120)HPSDFGADAQGAMSK <sup>(134)</sup> (141)NDMAAQYK <sup>(148)</sup>
<i>Alpha-crystallin B chain</i>					
Spot 23	20.02/6.76	CRYAB_BOVIN	161	33	(12)RPFPPFHSPSR <sup>(22)</sup> (57)APSWIDTGLSEMR <sup>(69)</sup> (57)APSWIDTGLSEMRLEX <sup>(72)</sup> (93)VLGDVIEVHGK <sup>(103)</sup> (164)EEKPAVTAAPK <sup>(174)</sup>
<i>Myosin light chain 3</i>					
Spot 29	28.55/5.19	A0A3Q1M165	114	15	(48)IEFTPEQIEEFK <sup>(59)</sup> (86)ALGQNPTQAEVLR <sup>(98)</sup> (128)NKDTGTYEDFVEGLR <sup>(142)</sup> (130)DTGTYEDFVEGLR <sup>(142)</sup>
<i>Myosin light chain 6B</i>					
Spot 32	23.50/5.40	Q148H2	91	11	(98)ALGQNPTNAEVLR <sup>(110)</sup>

<sup>(144)</sup>GSYQDYLEGLR<sup>(154)</sup>

---

*ATP synthase subunit d, mitochondrial*

Spot 33                    18.74            ATP5H\_BOVIN        80            30

<sup>(10)</sup>TIDWVAFGEIIPR<sup>(22)</sup>

<sup>(33)</sup>SWNETLTSR<sup>(41)</sup>

<sup>(42)</sup>LATLPEKPPAIDWAYYK<sup>(58)</sup>

<sup>(64)</sup>AGLVDDFEKK<sup>(73)</sup>

---

*Triosephosphate isomerase*

Spot 34                    26.90/6.45        TPIS\_BOVIN            57            7

<sup>(114)</sup>VAHALAEG LGVIACIGEK<sup>(131)</sup>

<sup>(60)</sup>IAVAAQNCYK<sup>(69)</sup>

<sup>(70)</sup>VANGAFTGEISPGMIK<sup>(85)</sup>

<sup>(86)</sup>DLGATWVVLGHSER<sup>(99)</sup>

<sup>(101)</sup>HVFGESDELIGQK<sup>(113)</sup>

<sup>(161)</sup>VVLA YEPVWAIGTGK<sup>(175)</sup>

<sup>(195)</sup>SNVSDAVAQSAR<sup>(206)</sup>

<sup>(207)</sup>IYGGSVTGATCK<sup>(219)</sup>

Spot 35                    26.90/6.45        TPIS\_BOVIN            232           37

<sup>(60)</sup>IAVAAQNCYK<sup>(69)</sup>

<sup>(70)</sup>VANGAFTGEISPGMIK<sup>(85)</sup>

<sup>(101)</sup>HVFGESDELIGQK<sup>(113)</sup>

<sup>(207)</sup>IYGGSVTGATCK<sup>(219)</sup>

Spot 36                    26.90/6.45        TPIS\_BOVIN            145           20

<sup>(60)</sup>IAVAAQNCYK<sup>(69)</sup>

Spot 41                    26.90/6.45        TPIS\_BOVIN            207           20

Spot 42	26.90/6.45	TPIS_BOVIN	317	31	<sup>(161)</sup> VVLA YEPVWAIGTGK <sup>(175)</sup> <sup>(195)</sup> SNVSDAVAQSAR <sup>(206)</sup> <sup>(207)</sup> IYGGSVTGATCK <sup>(219)</sup> <sup>(60)</sup> IAVAAQNCYK <sup>(69)</sup> <sup>(86)</sup> DLGATWVVLGHSER <sup>(99)</sup> <sup>(100)</sup> RHVFGESDELIGQK <sup>(113)</sup> <sup>(101)</sup> HVFGESDELIGQK <sup>(113)</sup>
Spot 43	26.90/6.45	TPIS_BOVIN	261	32	<sup>(161)</sup> VVLA YEPVWAIGTGK <sup>(175)</sup> <sup>(195)</sup> SNVSDAVAQSAR <sup>(206)</sup> <sup>(207)</sup> IYGGSVTGATCK <sup>(219)</sup> <sup>(60)</sup> IAVAAQNCYK <sup>(69)</sup> <sup>(70)</sup> VANGAFTGEISPGMIK <sup>(85)</sup> <sup>(86)</sup> DLGATWVVLGHSER <sup>(99)</sup> <sup>(100)</sup> RHVFGESDELIGQK <sup>(113)</sup> <sup>(101)</sup> HVFGESDELIGQK <sup>(113)</sup>
<hr/>					
<i>Actin, aortic smooth muscle</i>					
Spot 30	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	77	8	<sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(53)</sup> DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup>

Spot 31	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	57	4	(199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>
					(199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>
					(331)IIAPPER <sup>(337)</sup>
Spot 49	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	104	8	(21)AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup>
					(53)DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup>
					(199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>
Spot 71	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	33	2	(199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>
Spot 74	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	40	2	(199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>
Spot 86	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	198	14	(21)AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup>
					(98)VAPEEHPTLLTEAPLNPK <sup>(115)</sup>
					(241)SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup>
					(318)EITALAPSTMK <sup>(328)</sup>
Spot 87	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	71	5	(21)AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup>
					(199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>
Spot 92	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	60	5	(21)AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup>
					(199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>
Spot 93	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	51	2	(199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>
Spot 94	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	46	2	(199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>
Spot 95	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	51	2	(199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>
Spot 96	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	41	2	(199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>

Spot 99	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	102	8	(21)AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> (199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> (318)EITALAPSTMK <sup>(328)</sup>
Spot 101	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	61	7	(21)AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> (199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> (331)IIAPPER <sup>(337)</sup>
Spot 102	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	58	7	(21)AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> (199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> (331)IIAPPER <sup>(337)</sup>
Spot 109	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	52	2	(199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>
Spot 110	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	61	5	(21)AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> (199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>
Spot 111	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	64	4	(199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> (331)IIAPPER <sup>(337)</sup>
Spot 115	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	65	3	(199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> (331)IIAPPER <sup>(337)</sup>
Spot 116	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	71	7	(21)AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> (199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> (331)IIAPPER <sup>(337)</sup>
Spot 123	42.38/5.23	ACTA_BOVIN	51	2	(199)GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>

---

---

*Heat shock protein beta-1*

Spot 37	22.44/5.98	HSPB1_BOVIN	45	14	(21)DWYPAHSR <sup>(28)</sup> (29)LFDQAFGLPR <sup>(38)</sup> (109)TKDGVVEITGK <sup>(119)</sup>
Spot 38	22.44/5.98	HSPB1_BOVIN	29	5	(120)HEERQDEHGYISR <sup>(132)</sup>
Spot 39	22.44/5.98	HSPB1_BOVIN	86	22	(21)DWYPAHSR <sup>(28)</sup> (76)QLSSGVSEIQQTADR <sup>(90)</sup> (120)HEERQDEHGYISR <sup>(132)</sup> (185)AQLGGPEAGK <sup>(194)</sup>
Spot 40	22.44/5.98	HSPB1_BOVIN	43	4	(29)LFDQAFGLPR <sup>(38)</sup>

---

*Adenylate kinase isoenzyme*

Spot 40	21.76/8.40	KAD1_BOVIN	71	6	(32)YGYTHLSTGDLLR <sup>(44)</sup>
Spot 48	21.76/8.40	KAD1_BOVIN	126	11	(10)IIFVVGGPGSGK <sup>(21)</sup> (156)ATEPVIAFYEK <sup>(166)</sup>

---

*Carbonic anhydrase 3*

Spot 44	29.64/7.71	CAH3_BOVIN	122	21	(68)VVFDDTYDR <sup>(76)</sup> (81)GGPLAAPYR <sup>(89)</sup> (127)YNSYATALK <sup>(135)</sup> (213)EPITVSSDQIAK <sup>(224)</sup> (227)TLYSSAENEPPVPLVR <sup>(242)</sup>
---------	------------	------------	-----	----	---

Spot 45	29.64/7.71	CAH3_BOVIN	123	17	(68)VVFDDTYDR <sup>(76)</sup> (81)GGPLAAPYR <sup>(89)</sup> (213)EPITVSSDQIAK <sup>(224)</sup> (227)TLYSSAENEPPVPLVR <sup>(242)</sup>
Spot 46	29.64/7.71	CAH3_BOVIN	133	21	(68)VVFDDTYDR <sup>(76)</sup> (81)GGPLAAPYR <sup>(89)</sup> (127)YNSYATALK <sup>(135)</sup> (213)EPITVSSDQIAK <sup>(224)</sup> (227)TLYSSAENEPPVPLVR <sup>(242)</sup>
Spot 47	29.64/7.71	CAH3_BOVIN	204	17	(68)VVFDDTYDR <sup>(76)</sup> (127)YNSYATALK <sup>(135)</sup> (213)EPITVSSDQIAK <sup>(224)</sup> (227)TLYSSAENEPPVPLVR <sup>(242)</sup>
Spot 68	29.64/7.71	CAH3_BOVIN	44	3	(81)GGPLAAPYR <sup>(89)</sup>
Spot 81	29.64/7.71	CAH3_BOVIN	57	3	(68)VVFDDTYDR <sup>(76)</sup>
<hr/>					
<i>Phosphoglycerate mutase 1</i>					
Spot 44	28.95/6.67	PGAM1_BOVIN	43	4	(181)VLIAAHGNSLR <sup>(191)</sup>
<hr/>					
<i>Actin, alpha cardiac muscle 1</i>					
Spot 50	42.33/5.23	ACTC_BOVIN	226	21	(21)AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> (53)DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup>

Spot 51	42.33/5.23	ACTC_BOVIN	323	28	<sup>(98)</sup> VAPEEHPTLLTEAPLNPK <sup>(115)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> <sup>(318)</sup> EITALAPSTMK <sup>(328)</sup> <sup>(331)</sup> IIAPPER <sup>(337)</sup> <sup>(362)</sup> QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup> <sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(53)</sup> DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup> <sup>(87)</sup> IWHHTFYNELR <sup>(97)</sup>
Spot 54	42.33/5.23	ACTC_BOVIN	194	18	<sup>(98)</sup> VAPEEHPTLLTEAPLNPK <sup>(115)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> <sup>(241)</sup> SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup> <sup>(318)</sup> EITALAPSTMK <sup>(328)</sup> <sup>(331)</sup> IIAPPER <sup>(337)</sup> <sup>(362)</sup> QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup> <sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(53)</sup> DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup> <sup>(87)</sup> IWHHTFYNELR <sup>(97)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> <sup>(241)</sup> SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup> <sup>(318)</sup> EITALAPSTMK <sup>(328)</sup>



Spot 55	42.33/5.23	ACTC_BOVIN	251	21	<sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(53)</sup> DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup> <sup>(87)</sup> IWHHTFYNELR <sup>(97)</sup> <sup>(318)</sup> EITALAPSTMK <sup>(328)</sup> <sup>(331)</sup> IIAPPER <sup>(337)</sup> <sup>(362)</sup> QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup>
Spot 56	42.33/5.23	ACTC_BOVIN	206	18	<sup>(362)</sup> QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup> <sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(53)</sup> DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup> <sup>(87)</sup> IWHHTFYNELR <sup>(97)</sup> <sup>(241)</sup> SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup> <sup>(318)</sup> EITALAPSTMK <sup>(328)</sup>
Spot 57	42.33/5.23	ACTC_BOVIN	223	15	<sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> <sup>(241)</sup> SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup> <sup>(318)</sup> EITALAPSTMK <sup>(328)</sup> <sup>(362)</sup> QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup>
Spot 58	42.33/5.23	ACTC_BOVIN	215	18	<sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(53)</sup> DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>

Spot 59	42.33/5.23	ACTC_BOVIN	222	20	<sup>(241)</sup> SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup> <sup>(318)</sup> EITALAPSTMK <sup>(328)</sup> <sup>(362)</sup> QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup> <sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(53)</sup> DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>
Spot 75	42.33/5.23	ACTC_BOVIN	110	15	<sup>(241)</sup> SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup> <sup>(318)</sup> EITALAPSTMK <sup>(328)</sup> <sup>(331)</sup> IIAPPER <sup>(337)</sup> <sup>(362)</sup> QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup>
Spot 89	42.33/5.23	ACTC_BOVIN	315	22	<sup>(241)</sup> SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup> <sup>(318)</sup> EITALAPSTMK <sup>(328)</sup> <sup>(331)</sup> IIAPPER <sup>(337)</sup> <sup>(362)</sup> QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup> <sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(87)</sup> IWHHTFYNELR <sup>(97)</sup> <sup>(98)</sup> VAPEEHPTLLTEAPLNPK <sup>(115)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> <sup>(241)</sup> SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup>

Spot 103	42.33/5.23	ACTC_BOVIN	156	18	<sup>(318)</sup> EITALAPSTMK <sup>(328)</sup> <sup>(331)</sup> IIAPPER <sup>(337)</sup> <sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(53)</sup> DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> <sup>(241)</sup> SYELPDGQVITIGNER <sup>(256)</sup> <sup>(318)</sup> EITALAPSTMK <sup>(328)</sup> <sup>(362)</sup> QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup>
Spot 104			79	11	<sup>(21)</sup> AGFAGDDAPR <sup>(30)</sup> <sup>(53)</sup> DSYVGDEAQSK <sup>(63)</sup> <sup>(199)</sup> GYSFVTTAER <sup>(208)</sup> <sup>(362)</sup> QEYDEAGPSIVHR <sup>(374)</sup>
<hr/> <i>Tropomyosin beta chain</i>					
Spot 52	32.93/4.66	TPM2_BOVIN	439	31	<sup>(13)</sup> LDKENAIDR <sup>(21)</sup> <sup>(60)</sup> YSESVKDAQEK <sup>(70)</sup> <sup>(77)</sup> KATDAEADVASLNR <sup>(90)</sup> <sup>(78)</sup> ATDAEADVASLNR <sup>(90)</sup> <sup>(91)</sup> RIQLVEEELDR <sup>(101)</sup> <sup>(92)</sup> IQLVEEELDR <sup>(101)</sup> <sup>(168)</sup> KLVILEGELER <sup>(178)</sup>

---

<sup>(169)</sup>LVILEGELER<sup>(178)</sup><sup>(190)</sup>CGDLEEELK<sup>(198)</sup><sup>(206)</sup>SLEAQADKYSTK<sup>(217)</sup><sup>(252)</sup>TIDDLEDEVYAQK<sup>(264)</sup>

---

*Tropomyosin alpha-1 chain*

Spot 52            32.73/4.69        TPM1\_BOVIN        434            29

<sup>(13)</sup>LDKENAIDR<sup>(21)</sup><sup>(38)</sup>QLEDELVSLQK<sup>(48)</sup><sup>(52)</sup>ATEDELDKYSEALK<sup>(65)</sup><sup>(77)</sup>KATDAEADVASLNR<sup>(90)</sup><sup>(78)</sup>ATDAEADVASLNR<sup>(90)</sup><sup>(91)</sup>RIQLVEEELDR<sup>(101)</sup><sup>(92)</sup>IQLVEEELDR<sup>(101)</sup><sup>(168)</sup>KLVILEGELER<sup>(178)</sup><sup>(169)</sup>LVILEGELER<sup>(178)</sup><sup>(252)</sup>TIDDLEDEVYAQK<sup>(264)</sup>

Spot 53            32.73/4.69        TPM1\_BOVIN        364            32

<sup>(13)</sup>LDKENAIDR<sup>(21)</sup><sup>(36)</sup>SKQLEDELVSLQK<sup>(48)</sup><sup>(38)</sup>QLEDELVSLQK<sup>(48)</sup><sup>(52)</sup>ATEDELDKYSEALK<sup>(65)</sup><sup>(77)</sup>KATDAEADVASLNR<sup>(90)</sup>

Spot 80	32.73/4.69	TPM1_BOVIN	61	4	(78)ATDAEADVASLNR <sup>(90)</sup> (92)IQLVEEELDR <sup>(101)</sup> (168)KLVILEGELER <sup>(178)</sup> (169)LVILEGELER <sup>(178)</sup> (190)CAELEEEELK <sup>(198)</sup> (252)SIDDLLEDELYAQK <sup>(264)</sup> (252)SIDDLLEDELYAQK <sup>(264)</sup>
<i>Tropomyosin alpha-3 chain</i>					
Spot 53	32.86/4.68	TPM3_BOVIN	128	15	(13)LDKENAIDR <sup>(21)</sup> (77)KATDAEADVASLNR <sup>(90)</sup> (92)IQLVEEELDR <sup>(101)</sup> (168)KLVILEGELER <sup>(178)</sup>
<i>Malate dehydrogenase, cytoplasmic</i>					
Spot 60	36.70/6.16	MDHC_BOVIN	53	5	(171)LGVTSDDDVK <sup>(179)</sup> (221)GEFITTVQQR <sup>(230)</sup>
Spot 62	36.70/6.16	MDHC_BOVIN	122	17	(67)DVIATDKEEIAFK <sup>(79)</sup> (80)DLDVAILVGSMR <sup>(92)</sup> (171)LGVTSDDDVK <sup>(179)</sup> (206)EVGVYEALKDDSWLK <sup>(220)</sup> (221)GEFITTVQQR <sup>(230)</sup>

---

*Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta, mitochondrial*

Spot 61	39.44/6.21	ODPB_BOVIN	83	3	(259)EGIECEVINLR <sup>(269)</sup>
---------	------------	------------	----	---	-----------------------------------

---

*Creatine kinase M-type*

Spot 63	42.96/6.63	KCRM_BOVIN	138	11	(87)DLFDPIIQDR <sup>(96)</sup> (157)LSVEALNSLTGEFK <sup>(170)</sup> (224)SFLVWVNEEDHLR <sup>(236)</sup> (308)FEEILTR <sup>(314)</sup>
Spot 64	42.96/6.63	KCRM_BOVIN	56	3	(224)SFLVWVNEEDHLR <sup>(236)</sup>
Spot 65	42.96/6.63	KCRM_BOVIN	44	2	(224)SFLVWVNEEDHLR <sup>(236)</sup>
Spot 66	42.96/6.63	KCRM_BOVIN	127	11	(87)DLFDPIIQDR <sup>(96)</sup> (224)SFLVWVNEEDHLR <sup>(236)</sup> (320)RGTGGVDTAAVGSVFDVSNADR <sup>(341)</sup>
Spot 72	43.19/6.63	KCRM_BOVIN	278	23	(16)AEEEYPDLK <sup>(25)</sup> (33)ALTLEIYK <sup>(40)</sup> (87)DLFDPIIQDR <sup>(96)</sup> (139)GYALPPHCSR <sup>(148)</sup> (224)SFLVWVNEEDHLR <sup>(236)</sup> (321)GTGGVDTAAVGSVFDVSNADR <sup>(341)</sup> (342)LGSSEVEQVQLVVDGVK <sup>(358)</sup>
Spot 73	43.19/6.63	KCRM_BOVIN	336	25	(16)AEEEYPDLK <sup>(25)</sup>

Spot 74

43.19/6.63

KCRM\_BOVIN

1056

43

<sup>(33)</sup>ALTLEIYKK<sup>(41)</sup><sup>(87)</sup>DLFDPIIQDR<sup>(96)</sup><sup>(139)</sup>GYALPPHCSR<sup>(148)</sup><sup>(224)</sup>SFLVWVNEEDHLR<sup>(236)</sup><sup>(252)</sup>RFCVGLQK<sup>(259)</sup><sup>(320)</sup>RGTGGVDTAAVGSVFDVSNADR<sup>(341)</sup><sup>(321)</sup>GTGGVDTAAVGSVFDVSNADR<sup>(341)</sup><sup>(342)</sup>LGSSEVEQVQLVVDGVK<sup>(358)</sup><sup>(12)</sup>LNFKAE E EYPDL SK<sup>(25)</sup><sup>(16)</sup>A E E EYPDL SK<sup>(25)</sup><sup>(33)</sup>ALTLEIYKK<sup>(41)</sup><sup>(139)</sup>GYALPPHCSR<sup>(148)</sup><sup>(157)</sup>LSVEALNSLTGEFK<sup>(170)</sup><sup>(178)</sup>SMTEQEQQQLIDDHFLFDKPVSPLLLASGMAR<sup>(209)</sup><sup>(224)</sup>SFLVWVNEEDHLR<sup>(236)</sup><sup>(252)</sup>RFCVGLQK<sup>(259)</sup><sup>(267)</sup>AGHPFMWNEHLGYVLTCP SNLGTGLR<sup>(292)</sup><sup>(320)</sup>RGTGGVDTAAVGSVFDVSNADR<sup>(341)</sup><sup>(321)</sup>GTGGVDTAAVGSVFDVSNADR<sup>(341)</sup><sup>(342)</sup>LGSSEVEQVQLVVDGVK<sup>(358)</sup>

Spot 75	43.19/6.63	KCRM_BOVIN	210	15	( <sup>87</sup> )DLFDPIIQDR( <sup>96</sup> ) ( <sup>157</sup> )LSVEALNSLTGEFK( <sup>170</sup> ) ( <sup>224</sup> )SFLVWVNEEDHLR( <sup>236</sup> ) ( <sup>320</sup> )RGTGGVDTAAVGSVFDVSNADR( <sup>341</sup> ) ( <sup>321</sup> )GTGGVDTAAVGSVFDVSNADR( <sup>341</sup> )
Spot 76	43.19/6.63	KCRM_BOVIN	106	8	( <sup>87</sup> )DLFDPIIQDR( <sup>96</sup> ) ( <sup>224</sup> )SFLVWVNEEDHLR( <sup>236</sup> )
Spot 77	43.19/6.63	KCRM_BOVIN	56	1	( <sup>308</sup> )FEEILTR( <sup>314</sup> )
Spot 98	43.19/6.63	KCRM_BOVIN	65	3	( <sup>224</sup> )SFLVWVNEEDHLR( <sup>236</sup> )
Spot 100	43.19/6.63	KCRM_BOVIN	131	19	( <sup>16</sup> )AEEYPLSK( <sup>25</sup> ) ( <sup>33</sup> )ALTLEIYK( <sup>40</sup> ) ( <sup>33</sup> )ALTLEIYKK( <sup>41</sup> ) ( <sup>157</sup> )LSVEALNSLTGEFK( <sup>170</sup> ) ( <sup>224</sup> )SFLVWVNEEDHLR( <sup>236</sup> ) ( <sup>308</sup> )FEEILTR( <sup>314</sup> ) ( <sup>320</sup> )RGTGGVDTAAVGSVFDVSNADR( <sup>341</sup> )
Spot 107	43.19/6.63	KCRM_BOVIN	98	10	( <sup>16</sup> )AEEYPLSK( <sup>25</sup> ) ( <sup>87</sup> )DLFDPIIQDR( <sup>96</sup> ) ( <sup>224</sup> )SFLVWVNEEDHLR( <sup>236</sup> ) ( <sup>260</sup> )IEEIFKK( <sup>266</sup> )



Spot 108	43.19/6.63	KCRM_BOVIN	69	5	(16)AEEEYPDLSK <sup>(25)</sup> (87)DLFDPIIQDR <sup>(96)</sup>
<i>Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase</i>					
Spot 67	36.07/8.50	G3P_BOVIN	61	4	(71)AITIFQER <sup>(78)</sup> (226)LTGMAFR <sup>(232)</sup>
Spot 69	36.07/8.50	G3P_BOVIN	50	5	(226)LTGMAFR <sup>(232)</sup> (322)VVDLMVHMASK <sup>(332)</sup>
Spot 114	36.07/8.50	G3P_BOVIN	60	4	(71)AITIFQER <sup>(78)</sup> (226)LTGMAFR <sup>(232)</sup>
<i>Beta-enolase</i>					
Spot 70	47.41/7.60	ENOB_BOVIN	49	5	(16)GNPTVEVDLHTAK <sup>(28)</sup> (184)IGAEVYHHLK <sup>(193)</sup>
Spot 79	47.41/7.60	ENOB_BOVIN	55	1	(413)IEEALGDK <sup>(420)</sup>
Spot 97	47.41/7.60	ENOB_BOVIN	47	2	(229)TAIQAAGYPDK <sup>(239)</sup>
Spot 99	47.41/7.60	ENOB_BOVIN	78	7	(16)GNPTVEVDLHTAK <sup>(28)</sup> (72)TLGPALLEK <sup>(80)</sup> (229)TAIQAAGYPDK <sup>(239)</sup>
Spot 102	47.41/7.60	ENOB_BOVIN	98	12	(33)AAVPSGASTGIYEALR <sup>(50)</sup> (82)LSVVDQEK <sup>(89)</sup> (93)FMIELDGTENK <sup>(103)</sup>

Spot 103	47.41/7.60	ENOB_BOVIN	286	21	<sup>(229)</sup> TAIQAAGYPDK <sup>(239)</sup> <sup>(413)</sup> IEEALGDK <sup>(420)</sup> <sup>(33)</sup> AAVPSGASTGIYEALRL <sup>(50)</sup> <sup>(81)</sup> KLSVVDQEK <sup>(89)</sup> <sup>(82)</sup> LSVVDQEK <sup>(89)</sup> <sup>(93)</sup> FMIELDGTENK <sup>(103)</sup> <sup>(229)</sup> TAIQAAGYPDK <sup>(239)</sup> <sup>(240)</sup> VVIGMDVAASEFYR <sup>(253)</sup> <sup>(359)</sup> LAQSNWGVMSHR <sup>(372)</sup> <sup>(413)</sup> IEEALGDK <sup>(420)</sup>
Spot 104	47.41/7.60	ENOB_BOVIN	121	11	<sup>(33)</sup> AAVPSGASTGIYEALRL <sup>(50)</sup> <sup>(93)</sup> FMIELDGTENK <sup>(103)</sup> <sup>(229)</sup> TAIQAAGYPDK <sup>(239)</sup> <sup>(413)</sup> IEEALGDK <sup>(420)</sup>
Spot 105	47.41/7.60	ENOB_BOVIN	347	24	<sup>(16)</sup> GNPTVEVDLHTAK <sup>(28)</sup> <sup>(33)</sup> AAVPSGASTGIYEALRL <sup>(50)</sup> <sup>(72)</sup> TLGPALLEK <sup>(80)</sup> <sup>(81)</sup> KLSVVDQEK <sup>(89)</sup> <sup>(93)</sup> FMIELDGTENK <sup>(103)</sup> <sup>(229)</sup> TAIQAAGYPDK <sup>(239)</sup>

Spot 106	47.41/7.60	ENOB_BOVIN	495	26	<sup>(240)</sup> VVIGMDVAASEFYR <sup>(253)</sup> <sup>(359)</sup> LAQSNWGWVMVSHR <sup>(372)</sup> <sup>(413)</sup> IEEALGDK <sup>(420)</sup> <sup>(16)</sup> GNPTVEVDLHTAK <sup>(28)</sup> <sup>(33)</sup> AAVPSGASTGIYEALRL <sup>(50)</sup> <sup>(81)</sup> KLSVVDQEK <sup>(89)</sup> <sup>(93)</sup> FMIELDGTENK <sup>(103)</sup> <sup>(163)</sup> LAMQEFMILPVGASSFR <sup>(179)</sup> <sup>(184)</sup> IGAEVYHHLK <sup>(193)</sup> <sup>(229)</sup> TAIQAAGYPDK <sup>(239)</sup> <sup>(240)</sup> VVIGMDVAASEFYR <sup>(253)</sup> <sup>(359)</sup> LAQSNWGWVMVSHR <sup>(372)</sup>
Spot 109	47.41/7.60	ENOB_BOVIN	76	4	<sup>(229)</sup> TAIQAAGYPDK <sup>(239)</sup> <sup>(413)</sup> IEEALGDK <sup>(420)</sup>
Spot 111	47.41/7.60	ENOB_BOVIN	72	4	<sup>(229)</sup> TAIQAAGYPDK <sup>(239)</sup> <sup>(413)</sup> IEEALGDK <sup>(420)</sup>
Spot 112	47.41/7.60	ENOB_BOVIN	60	1	<sup>(413)</sup> IEEALGDK <sup>(420)</sup>
Spot 116	47.41/7.60	ENOB_BOVIN	75	4	<sup>(229)</sup> TAIQAAGYPDK <sup>(239)</sup> <sup>(413)</sup> IEEALGDK <sup>(420)</sup>

---

*Fructose-bisphosphate aldolase*

Spot 78	39.51/8.60	A0A3Q1LMG1	123	13	(29)GILAADESTGSIAK <sup>(42)</sup> (88)ADDGRPPQVIK <sup>(99)</sup> (102)GGVVGIK <sup>(108)</sup> (210)VLAAVYK <sup>(216)</sup> (324)AAQEEYVKR <sup>(332)</sup>
Spot 82	39.51/8.60	A0A3Q1LMG1	221	15	(29)GILAADESTGSIAK <sup>(42)</sup> (88)ADDGRPPQVIK <sup>(99)</sup> (102)GGVVGIK <sup>(108)</sup> (210)VLAAVYK <sup>(216)</sup> (245)YSHEEIAMATVTALR <sup>(259)</sup> (324)AAQEEYVKR <sup>(332)</sup>
Spot 83	39.51/8.60	A0A3Q1LMG1	104	7	(29)GILAADESTGSIAK <sup>(42)</sup> (244)YSHEEIAMATVTALR <sup>(258)</sup>
Spot 84	39.51/8.60	A0A3Q1LMG1	74	3	(29)GILAADESTGSIAK <sup>(42)</sup>
Spot 85	39.51/8.60	A0A3Q1LMG1	110	11	(29)GILAADESTGSIAK <sup>(42)</sup> (88)ADDGRPPQVIK <sup>(99)</sup> (244)YSHEEIAMATVTALR <sup>(258)</sup>
Spot 113			130	14	(29)GILAADESTGSIAK <sup>(42)</sup> (88)ADDGRPPQVIK <sup>(99)</sup> (244)YSHEEIAMATVTALR <sup>(258)</sup>

---

<sup>(332)</sup>ALANSLACQGK<sup>(342)</sup>

---

*ATP synthase subunit beta, mitochondrial*

Spot 88	56.25/5.15	ATPB_BOVIN	98	7	<sup>(95)</sup> LVLEVAQHLGESTVR <sup>(109)</sup> <sup>(134)</sup> IPVGPETLGR <sup>(143)</sup> <sup>(144)</sup> IMNVIGEPIDER <sup>(155)</sup>
Spot 90	56.25/5.15	ATPB_BOVIN	313	19	<sup>(95)</sup> LVLEVAQHLGESTVR <sup>(109)</sup> <sup>(110)</sup> TIAMDGTEGLVR <sup>(121)</sup> <sup>(125)</sup> VLDSGAPIR <sup>(133)</sup> <sup>(144)</sup> IMNVIGEPIDER <sup>(155)</sup> <sup>(226)</sup> AHGGYSVFAGVGER <sup>(239)</sup> <sup>(282)</sup> VALTGLTVAEYFR <sup>(294)</sup> <sup>(311)</sup> FTQAGSEVSALLGR <sup>(324)</sup> <sup>(407)</sup> IMDPNIVGSEHYDVAR <sup>(4220)</sup>
Spot 92	56.25/5.15	ATPB_BOVIN	62	4	<sup>(189)</sup> VVDLLAPYAK <sup>(198)</sup> <sup>(226)</sup> AHGGYSVFAGVGER <sup>(239)</sup>

---

*Desmin*

Spot 91	53.56/5,21	DESM_BOVIN	83	4	<sup>(151)</sup> VAEIYEEELR <sup>(160)</sup> <sup>(213)</sup> ADVDAATLAR <sup>(222)</sup>
---------	------------	------------	----	---	--

---

*Cytochrome b-c1 complex subunit 1, mitochondrial*

Spot 93	53.44/5.94	QCR1_BOVIN	39	2	<sup>(229)</sup> MVLAAAGGLEHR <sup>(240)</sup>
---------	------------	------------	----	---	--

Spot 94	53.44/5.94	QCR1_BOVIN	115	5	(214)ADLTEYLSR <sup>(222)</sup> (229)MVLAAAGGLEHR <sup>(240)</sup> (433)IAEVDAR <sup>(439)</sup>
<i>Myosin-2</i>					
Spot 117	224.09/5.63	MYH2_BOVIN	120	4	(958)DIDDLELTLAK <sup>(968)</sup> (1120)IEELEEEIEAER <sup>(1131)</sup> (1147)ELEEISER <sup>(1154)</sup> (1285)LQTESGEFSR <sup>(1294)</sup> (1378)TKYETDAIQR <sup>(1387)</sup> (1683)ANLLQAEIEELR <sup>(16940)</sup> (1706)IAEQELLDASER <sup>(1717)</sup> (1854)ELTYQTEEDRK <sup>(1864)</sup>
<i>Heat shock cognate 71 kDa protein</i>					
Spot 118	74.42/5.37	HSP7C_BOVIN	86	1	(160)DAGTIAGLNVL <sup>(171)</sup>
<i>Albumin</i>					
Spot 119	71.14/5.80	ALBU_SHEEP	87	9	(257)IVTDLTK <sup>(263)</sup> (360)RHPEYAVSVLLR <sup>(371)</sup> (421)HGEYGFQNALIVR <sup>(433)</sup> (437)KAPQVSTPTLVEISR <sup>(451)</sup> (499)CCTESLVNR <sup>(507)</sup>

Spot 120	71.14/5.80	ALBU_SHEEP	152	10	(347)DVFLGSFLYEYSR <sup>(359)</sup> (402)HLVDEPQNLIK <sup>(412)</sup> (421)HGEYGFQNALIVR <sup>(433)</sup> (437)KAPQVSTPTLVEISR <sup>(451)</sup> (569)TVMENFVAFVDK <sup>(5800)</sup>
Spot 121	71.14/5.80	ALBU_SHEEP	198	15	(89)SLHTLFGDELCK <sup>(1000)</sup> (257)IVTDLTK <sup>(263)</sup> (286)YICDHQDALSSK <sup>(297)</sup> (360)RHPEYAVSVLLR <sup>(371)</sup> (402)HLVDEPQNLIK <sup>(412)</sup> (421)HGEYGFQNALIVR <sup>(433)</sup> (437)KAPQVSTPTLVEISR <sup>(451)</sup> (548)KQTALVELLK <sup>(557)</sup>
Spot 122	71.14/5.80	ALBU_SHEEP	59	4	(360)RHPEYAVSVLLR <sup>(371)</sup> (437)KAPQVSTPTLVEISR <sup>(451)</sup>
<hr/> <i>Serotransferrin</i>					
Spot 124	79.87/6.75	TRFE_BOVIN	91	2	(540)YYGYTGAFR <sup>(548)</sup> (671)TYDSYLGDDYVR <sup>(682)</sup>
<hr/> <i>Myosin binding protein H</i>					
Spot 125	53.65/5.71	Q0VBZ1	84	2	(114)LGLQGYVLELR <sup>(124)</sup>

---

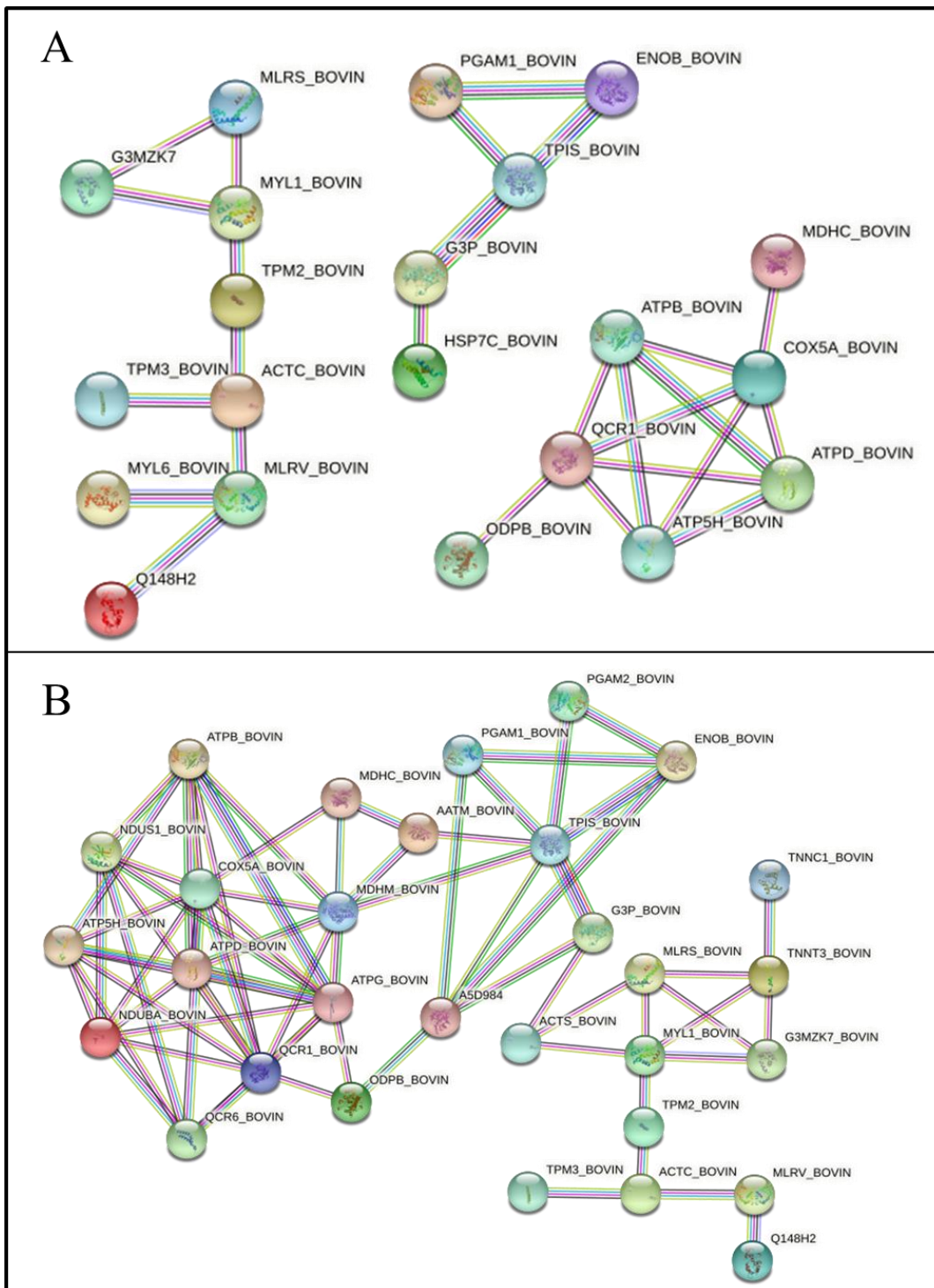
*Troponin T, slow skeletal muscle*

Spot 126	31.27/5.71	TNNT1_BOVIN	108	8	<sup>(56)</sup> IPEGERVDFDDIHR <sup>(69)</sup> <sup>(234)</sup> YEINVLYNR <sup>(242)</sup>
----------	------------	-------------	-----	---	---

---

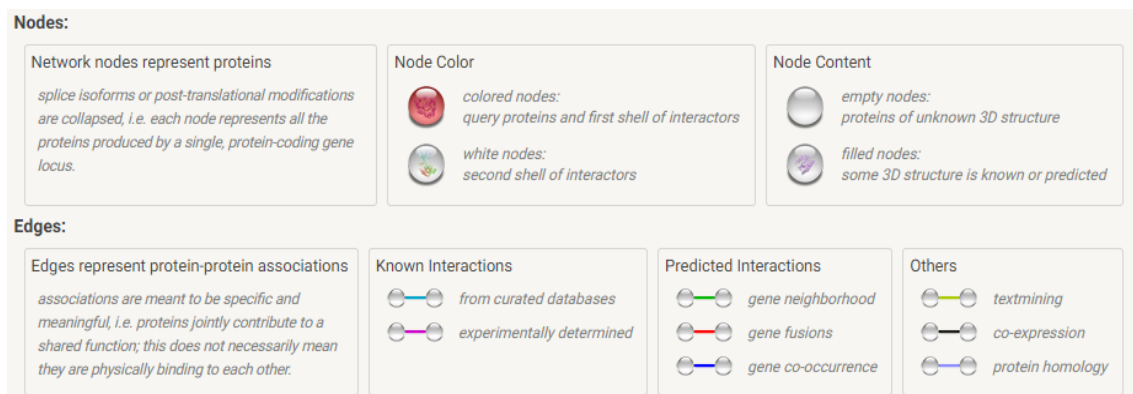


## APÊNDICE B – ANÁLISE DE INTERAÇÃO PROTEÍNA-PROTEÍNA



Lenged: Actin (ACTC\_BOVIN and ACTS\_BOVIN); Myosin (Q148H2, MLRS\_BOVIN, MYL6\_BOVIN, MYL1\_BOVIN, MLRV\_BOVIN), Tropomyosin (TPM2\_BOVIN, TPM3\_BOVIN); Heat shock protein (HSP7C\_BOVIN); Troponin (G3MZK7, TNNC1\_BOVIN, TNNT3\_BOVIN); Cytochrome oxidase (COX5A\_BOVIN); Cytochrome b-c1 complex (QCR1\_BOVIN and QCR6\_BOVIN);

Beta enolase (ENOB\_BOVIN); Malate dehydrogenase (MDHC\_BOVIN, MDHM\_BOVIN); Phosphoglycerate (PGAM1\_BOVIN, PGAM2\_BOVIN); Glyceraldehyde phosphate dehydrogenase (G3P\_BOVIN); ATP synthase (ATPD\_BOVIN, ATPB\_BOVIN, ATPG\_BOVIN, ATP5H\_BOVIN); Pyruvate dehydrogenase (ODPB\_BOVIN); Triosephosphate isomerase (TPIS\_BOVIN), NADH-ubiquinone oxidoreductase (NDUS1\_BOVIN); NADH dehydrogenase (NDUBA\_BOVIN); Aspartate aminotransferase (AATM\_BOVIN); Pyruvate kinase (A5D984).



ACTC\_BOVIN - Actin, alpha cardiac muscle 1;

ACTS\_BOVIN - Actin, alpha skeletal muscle;

Q148H2 - Bos taurus myosin, light chain 6B;

MLRS\_BOVIN - Myosin regulatory light chain 2, skeletal muscle isoform;

MYL6\_BOVIN - Myosin light polypeptide 6;

MYL1\_BOVIN - Myosin regulatory light chain 2, skeletal muscle isoform;

MLRV\_BOVIN - Myosin regulatory light chain 2, ventricular/cardiac muscle isoform;

TPM2\_BOVIN - Tropomyosin beta chain;

TPM3\_BOVIN - Tropomyosin alpha-3 chain;

HSP7C\_BOVIN - Heat shock cognate 71 kDa protein;

G3MZX7 - Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase;

TNNC1\_BOVIN - Troponin C, slow skeletal and cardiac muscles;

TNNT3\_BOVIN - Troponin T, fast skeletal muscle;

COX5A\_BOVIN - Cytochrome c oxidase subunit 5A, mitochondrial;

QCR1\_BOVIN - Cytochrome b-c1 complex subunit 1, mitochondrial precursor;

QCR6\_BOVIN - Cytochrome b-c1 complex subunit 6, mitochondrial;

ENOB\_BOVIN - Beta-enolase;

MDHC\_BOVIN - Malate dehydrogenase, cytoplasmic;

MDHM\_BOVIN - Malate dehydrogenase, mitochondrial;  
PGAM1\_BOVIN - 2,3-bisphosphoglycerate-dependent phosphoglycerate mutase  
PGAM2\_BOVIN - 2,3-bisphosphoglycerate-dependent phosphoglycerate mutase;  
G3P\_BOVIN - Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase;  
ATPD\_BOVIN - ATP synthase subunit delta, mitochondrial;  
ATPB\_BOVIN - ATP synthase subunit beta, mitochondrial;  
ATPG\_BOVIN - ATP synthase subunit gamma, mitochondrial;  
ATP5H\_BOVIN - ATP synthase subunit d, mitochondrial  
ODPB\_BOVIN - Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta, mitochondrial;  
TPIS\_BOVIN - Triosephosphate isomerase (tim);  
NDUS1\_BOVIN - NADH-ubiquinone oxidoreductase 75 kDa subunit, mitochondrial;  
NDUBA\_BOVIN - NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 10;  
AATM\_BOVIN - Aspartate aminotransferase, mitochondrial;  
A5D984 - Bos taurus pyruvate kinase, muscle (PKM), Mrna.