



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

IURY LIMA ARAGÃO MAGALHÃES

ANÁLISE COMPARATIVA DO PROTEOMA DO MÚSCULO *LONGISSIMUS DORSI* EM OVINOS DA RAÇA MORADA NOVA E SANTA INÊS ALIMENTADOS COM FARELO DE SOJA, FARELO DE MAMONA NÃO PENEIRADO E FARELO DE MAMONA PENEIRADO

FORTALEZA

2021

IURY LIMA ARAGÃO MAGALHÃES

ANÁLISE COMPARATIVA DO PROTEOMA DO MÚSCULO *LONGISSIMUS DORSI* EM OVINOS DA RAÇA MORADA NOVA E SANTA INÊS ALIMENTADOS COM FARELO DE SOJA, FARELO DE MAMONA NÃO PENEIRADO E FARELO DE MAMONA PENEIRADO

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia. Área de Concentração: Produção e Reprodução Animal.

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

Coorientador: Dr. Fábio Roger Vasconcelos.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M166a Magalhães, Iury Lima Aragão.

Análise comparativa do proteoma do músculo Longissimus dorsi em ovinos da raça Morada Nova e Santa Inês alimentados com farelo de soja e farelo de mamona / Iury Lima Aragão Magalhães. – 2021.
81 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Fortaleza, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Arlindo de Alencar Araripe Noronha Moura.
Coorientação: Prof. Dr. Fábio Roger Vasconcelos.

1. Proteína. 2. Pequenos ruminantes. 3. Ricina. 4. Proteômica. I. Título.

CDD 636.08

IURY LIMA ARAGÃO MAGALHÃES

ANÁLISE COMPARATIVA DO PROTEOMA DO MÚSCULO *LONGISSIMUS DORSI* EM OVINOS DA RAÇA MORADA NOVA E SANTA INÊS ALIMENTADOS COM FARELO DE SOJA, FARELO DE MAMONA NÃO PENEIRADO E FARELO DE MAMONA PENEIRADO

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia. Área de Concentração: Produção e Reprodução Animal.

Aprovado em 31/05/2021.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Maurício Fraga Van Tilburg
Universidade Federal do Semi-Árido (UFERSA)

Profa. Dra. Leda Maria Costa Pereira
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Prof. Dr. Fagner Cavalcante Patrocínio dos Santos
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Deus.

Meus pais, Alzira e Aragão.

Minha família.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, por ter me dado saúde quando enfermo, força quando fraquejei, paz quando aflito, animo quando deprimido, equilíbrio quando ansioso, aptidão quanto inapto. Obrigado por toda Sua glória.

À Universidade Estadual do Ceará, pelo apoio durante o período de graduação em Medicina Veterinária, principalmente por seu corpo docente e funcionários que nos apoiam sempre que possível.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por conceder o financiamento do projeto e a manutenção da bolsa de mestrado.

Ao Curso de Pós Graduação em Zootecnia da UFC e à sua coordenação por conceder a oportunidade e a organização de tudo, em especial a Francisca e a atual coordenadora Profa. Elzania Sales Pereira.

Ao meu orientador, Dr. Arlindo Moura, por toda sua paciência, dedicação e atenção com os seus orientados.

Ao meu coorientador, Dr. Fábio Roger, pelos ensinamentos laboratoriais, sugestões, paciência e didática empregada em nosso aprendizado.

Aos membros da banca, Dr. Arlindo Moura, Dr. Maurício Van Tilburg, Dra. Leda Pereira e Dr. Fagner Cavalcante pela honra de compartilharem comigo os seus conhecimentos enriquecendo este trabalho.

A toda equipe do Laboratório de Fisiologia Animal da Zootecnia (LFA), em especial para Bruna Félix e Ylana Galiza pela companhia e suporte nesse período.

A minha base familiar, mãe e pai, por todo suporte que me foi dado para que pudesse realizar meus objetivos.

A todos os animais que fizeram parte dos meus estudos e serviram de inspiração para seguir minha carreira.

A toda comunidade científica que trabalhou arduamente nesse período crítico de pandemia para que fosse possível a criação de uma vacina eficaz.

Obrigado!

***“A fé em Deus nos faz crer no incrível,
ver o invisível e realizar o impossível.”***

RESUMO

A dieta pode influenciar tanto no desempenho do animal quanto na expressão de proteínas musculares, impactando na qualidade da carne. No presente estudo, perfis proteômicos do músculo *Longissimus dorsi* de ovinos machos das raças Morada Nova e Santa Inês alimentados com três dietas distintas: contendo farelo de soja (FS), farelo de mamona dessolventizado (FMD) e farelo de mamona dessolventizado peneirado (FMDP) foram avaliados utilizando eletroforese unidimensional SDS-PAGE, análises computacionais, seguido de LC-MS e análises de ontologia gênica. O objetivo deste trabalho foi realizar uma análise comparativa entre os proteomas obtidos das análises do músculo *L. dorsi* nas três diferentes composições dietéticas. Os dados de desempenho dos animais foram publicados anteriormente, sem diferenças significativas ($p < 0,05$) para ganho de peso e conversão alimentar. Nos perfis proteômicos, a raça Santa Inês alimentada com FMDP apresentou aumento na expressão de proteínas ligadas à via glicolítica (CMK, ENO3, PGKA1) e proteínas estruturais (ACTA1) na banda 11 (52 kDa) que atuam diretamente em alterações *post mortem* que podem influenciar a qualidade da carne. Para raça Morada nova, foram detectadas 22 bandas e 70 proteínas, para raça Santa Inês, foram detectadas 25 bandas e 68 proteínas. Análises *in-silico* foram feitas utilizando a base de dados STRING 10.0 para as proteínas da banda diferencial. Para concluir, de acordo com a metodologia utilizada neste trabalho, a dieta com inclusão do FMDP apresentou discreta alteração no perfil proteico do músculo *L. dorsi*.

Palavras Chaves: *Ricinus communis*; ricina; pequenos ruminantes; proteômica.

ABSTRACT

Diet can influence animal performance and muscle protein expression, impacting meat quality. In the present study, proteomic profiles of the *Longissimus dorsi* muscle of Morada Nova and Santa Inês male sheep fed with three different diets: containing soybean bran (FS), detoxified castor bean bran (FMP) and detoxified sifted castor bean bran (FMDP) were evaluated using one-dimensional SDS-PAGE electrophoresis and computational analyses, followed by LC-MS and gene ontology analyses. The objective of this work was to carry out a comparative analysis between the proteomes obtained from the analyzes of the *L. dorsi* muscle in the three different dietary compositions. Animal performance data were previously published, showing no significant differences ($p < 0.05$) in weight gain and feed conversion. In proteomic profiles, the FMDP-fed Santa Inês breed showed an increase in the expression of proteins linked to the glycolytic pathway (CMK, ENO3, PGKA1) and structural proteins (ACTA1) in band 11 (52 kDa) that act directly on *post mortem* alterations, which can impact on meat quality. For the Morada Nova breed, 22 bands and 70 proteins were detected, for the Santa Inês breed, 25 bands and 68 proteins were detected. Analyzes *in silico* were performed using the STRING database 10.0 for differential band proteins. In conclusion, according to the methodology used in this work, the diet with inclusion of FMDP showed a slight alteration in the protein profile of the *L. dorsi* muscle.

Key-words: *Ricinus communis*; ricin; small ruminants; proteomics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mecanismo de citotoxicidade da ricina.....	21
Figura 2 - Ilustração anatômica do músculo <i>L. dorsi</i>	23
Figura 3 - Exemplos de carne <i>PSE</i> , Normal e <i>DFD</i>	25
Figura 4 - Análise proteômica <i>bottom up</i> por: (a) abordagens baseadas em gel e (b) sem gel.....	29
Figura 5 - Análise proteômica tipo <i>top-down</i>	29
Figura 6 - Gel de eletroforese SDS-PAGE 12,5% de proteínas do músculo <i>L. dorsi</i> de ovinos machos da raça Morada Nova.....	40
Figura 7 - Gel de eletroforese SDS-PAGE 12,5% de proteínas do músculo <i>L. dorsi</i> de ovinos machos da raça Santa Inês	40
Figura 8 - Expressão diferencial das bandas de proteínas do músculo <i>L. dorsi</i> de ovinos da raça Santa Inês. As barras representam a intensidade média (Média ± SEM) das bandas expressas em cada tratamento. FS: Farelo de soja; FMD: Farelo de mamona dessolventizado; FMDP: Farelo de mamona dessolventizado peneirado. As letras (a,b) representam o efeito do tratamento ($p<0,05$)	41
Figura 9 - Rede de interação das proteínas diferenciais CMK, ACTA1, ENO3, PGK1 e das 10 proteínas de maior interação do músculo <i>L. dorsi</i> de <i>Ovis aries</i> da raça Santa Inês, analisadas pelo STRING software.....	43
Figura 10 - Funções moleculares, processos biológicos, componentes celulares e classes das proteínas do músculo <i>L. dorsi</i> de ovinos da raça Morada Nova identificadas por espectrometria de massa ESI-Q-TOF. Os dados de proteína foram analisados utilizando o software GeneOntolony Resource Panther TM 16.0.....	44
Figura 11 - Funções moleculares, processos biológicos, componentes celulares e classes de proteínas do músculo <i>L. dorsi</i> de ovinos da raça Santa Inês identificadas por espectrometria de massa ESI-Q-TOF. Os dados de proteína foram analisados utilizando o software GeneOntolony Resource Panther TM 16.0.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição alimentar das dietas experimentais utilizadas no experimento.....	32
Tabela 2 - Desempenho dos ovinos para ganho de peso e conversão alimentar alimentados com FS, FMP e FMDP.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μg	micrograma
μL	microlitro
1D	unidimensional
CaCl_2	Cloreto de Cálcio
CB-1A	<i>Castor Bean Allergen</i>
DFD	<i>Dark, firm and dry</i>
FMD	Farelo de mamona dessolventizado
FMDP	Farelo de mamona dessolventizado peneirado
FS	Farelo de soja
g	grama
h	hora(s)
kDa	kiloDalton
kg	quilograma
M	molar
mA	miliamperegem
mAu	miliunidade de absorbância
mg	miligramma
min	minuto
mL	mililitro
mM	milimolar
MS/MS	Espectometria de massa em tandem
NaCl	Cloreto de sódio
PAGE	eletroforese em gel de poliacrilamida
pH	potencial hidrogeniônico
PSE	<i>Pale, soft and exudative</i>
RCA	<i>Ricinus communis</i> agglutinin
SDS	dodecil-sulfato de sódio
Tris	Tris (hidroximetil) aminometano
V	Volts
W	Watt

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1	Ovinocultura no nordeste brasileiro.....	18
2.2	Farelo de mamona.....	19
2.3	Músculo <i>L. dorsi</i>.....	22
2.4	Impacto do pH na qualidade carne.....	24
2.5	Proteínas do músculo <i>L. dorsi</i>.....	25
2.6	Análises proteômicas do tipo <i>Bottom-up</i> e <i>Top-down</i>.....	28
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
3.1	Design experimental.....	31
3.2	Animais e localização do experimento.....	31
3.3	Tratamentos e coleta das amostras.....	31
3.4	Extração das proteínas.....	34
3.5	Eletroforese unidimensional (SDS-PAGE) e análises computacionais.....	35
3.6	Digestão das proteínas e espectrometria de massa (<i>Electrospray ionization Quadrupole – Time of Flight / ESI-Q-TOF</i>).....	36
3.7	Análises estatísticas.....	38
3.8	<i>Gene ontology</i>, análises dos <i>clusters</i> funcionais e rede de interações proteína-proteína <i>in silico</i>.....	38
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
5	CONCLUSÃO.....	47
	REFERÊNCIAS.....	48
	ANEXO A - PROTEÍNAS DE <i>LONGISSIMUS DORSI</i> DE OVINOS DA RAÇA MORADA NOVA ALIMENTADOS COM FARELO DE SOJA, FARELO DE MAMONA DESSOLVENTIZADO E FARELO DE MAMONA DESSOLVENTIZADO PENEIRADO. AS PROTEÍNAS FORAM SEPARADAS POR ELETROFORESE UNIDIMENSIONAL (SDS-PAGE) E IDENTIFICADAS POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS (ESI-Q- TOF).....	53

ANEXO B - PROTEÍNAS DE *LONGISSIMUS DORSI* DE OVINOS DA

RAÇA SANTA INÊS ALIMENTADOS COM FARELO DE SOJA,
FARELO DE MAMONA DESSOLVENTIZADO DE FARELO DE
MAMONA DESSOLVENTIZADO PENEIRADO. AS PROTEÍNAS
FORAM SEPARADAS POR ELETROFORESE UNIDIMENSIONAL
(SDS-PAGE) E IDENTIFICADAS POR ESPECTROMETRIA DE
MASSAS

(ESI-Q-

TOF).....

68

1. INTRODUÇÃO

A semente de mamona (*Ricinus communis L.*) tem sido utilizada como matéria-prima para a criação de uma fonte de combustível não fóssil de maneira econômica e sustentável, o biodiesel (RODRIGUES, 2007). Além disso, o óleo derivado da semente de mamona tem muitas aplicações na indústria de limpeza, cosmética e farmacêutica (GOWDA *et al.*, 2009; SÁNCHEZ *et al.*, 2011; TUNARU *et al.*, 2012). Durante o processo de extração do óleo de mamona, uma grande quantidade de matéria orgânica é produzida, dado que, para cada 2,2 toneladas de matéria-prima utilizada, são produzidas uma tonelada de óleo de mamona e 1,2 toneladas de resíduos de alto teor proteico (MELO *et al.*, 2008). Essa matéria orgânica pode ser utilizada na dieta de animais como um alimento alternativo, contudo, devido às limitações relacionadas à toxicidade, seu uso para consumo animal é evitado e sua utilização é direcionada para fertilização orgânica e condicionador de solos (WORBS *et al.*, 2011).

A toxicidade dos subprodutos da mamona acontece devido à presença em altas concentrações das proteínas ricina, *Ricinus communis aglutinina* (RCA) e do complexo alergênico *Castor Bean Allergen* (CB-1A). A ricina possui alta toxicidade (GARDNER *et al.*, 1960) e é uma proteína constituída por duas cadeias polipeptídicas (A e B). A cadeia A é uma proteína catalítica inativadora de ribossomos classe II (RIP II) e a cadeia B é uma lectina com especificidade para galactose (LORD; SPOONER, 2011; ROY *et al.*, 2015). A limitação do uso de ricina em dietas animais justifica-se pela atividade metabólica. A cadeia B liga-se aos carboidratos que estão na membrana celular, favorecendo a fagocitose. Entrando na célula, as cadeias A e B são conduzidas ao complexo de Golgi por meio de vesículas endocíticas e, posteriormente, sofrem um transporte retrógrado até o retículo endoplasmático (AUDI *et al.*, 2005). No retículo endoplasmático, a cadeia A separa-se da cadeia B e, então, é translocada para o citosol,

inibindo a atividade ribossomal através da remoção dos resíduos de adenina da posição A4324 do rRNA 28S em mamíferos, que se tornam incapazes de realizar a síntese proteica (WALSH; DODD; HAUTBERGUE, 2013).

A relação de toxicidade entre a ricina e a RCA pode variar de 100 a 2000 vezes, sendo a citotoxicidade da ricina tão elevada a ponto que uma cadeia A pode ocasionar a morte celular devido à destruição dos ribossomos a uma velocidade superior à sua capacidade de renovação (OLSNES, S.; KOZLOV, 2001; WORBS, 2011).

Estudos indicam que a dose letal de ricina em humanos varia de 5 a 10 ug/kg de peso corporal nas vias de administração injetável e inalatória, enquanto, por via oral, essa dose foi de 1 a 20 mg/kg de peso corporal (KREUZER; WEST; EHLERINGER, 2013). O valor da dose letal quando há ingestão varia de acordo com a sensibilidade do animal, de forma que nos frangos a dose letal varia de 140 a 170 mg/kg de peso corporal, em suínos a dose fica entre 13 a 65 mg/kg de peso corporal, nos coelhos a dose é de 9 a 45 mg/kg de peso corporal. Os equinos são os mais sensíveis dentre as espécies estudadas, com dose letal entre 1 a 5 mg/kg de peso corporal (GARLAND; BAILEY, 2006).

Os ruminantes apresentam maior tolerância à exposição de derivados de mamona na alimentação. A inclusão da torta de mamona sem tratamento para detoxificação na dieta de ovinos não apresentou perdas expressivas de consumo e digestibilidade para um nível de inclusão de 8% (FURTADO *et al.*, 2012). Foi relatado o uso da torta de mamona não detoxificada na dieta de caprinos jovens por longos períodos, em uma inclusão de 15% da dieta, substituindo a torta de soja sem comprometer as características da carne. A justificativa de não haver perdas no desempenho animal pode ser atribuído a baixas concentrações de ricina na dieta total ou devido à degradação durante o metabolismo animal (OLIVEIRA *et al.*, 2015). Baseado

nisso, algumas técnicas para detoxificação por métodos químicos (utilização de compostos alcalinos), térmicos (autoclavação) e solventes orgânicos têm sido utilizadas para inativação da ricina no farelo de mamona, tornando mais segura sua inclusão como insumo em dietas para ruminantes (OLIVEIRA *et al.*, 2010; ARAÚJO, 2019; POMPEU, 2020).

As investigações proteômicas desempenham um papel importante na pesquisa de qualidade da carne, pois o objetivo final da criação de animais é a produção de proteína de alta qualidade para consumo humano (NAIR *et al.*, 2016). Estudos feitos por Desai *et al.* (2016) listaram proteínas presentes em carnes do tipo pálidas, moles e exudativas (*PSE-like*) de frango. Demonstraram que quando elevadas, enzimas que participam da via glicolíticas (fosfoglicerato quinase, beta-enolase, piruvato quinase) entre outras proteínas ligadas ao metabolismo energético (creatina quinase tipo-M, subunidades alfa da proteassoma, malato desidrogenase) podem gerar também uma rápida queda do pH, consequentemente, favorecendo a produção de carnes *PSE-like*.

A cor da carne é um importante atributo de qualidade que influencia as decisões de compra dos consumidores no ponto de venda (MANCINI; HUNT, 2005). Os consumidores costumam considerar a cor vermelha-cereja da carne fresca como um indicador confiável de salubridade. Durante a exibição no varejo, as carnes vermelhas frescas sofrem descoloração, resultando em perda de valor devido à redução de preço (SMITH *et al.*, 2000)

Desta forma, o objetivo deste trabalho é estabelecer uma análise comparativa entre os perfis proteicos do músculo *Longissimus dorsi* em ovinos da raça Santa Inês e Morada Nova alimentados com farelo de soja (FS), farelo de mamona dessolventizado (FMD) e farelo de mamona dessolventizado peneirado (FMDP).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Ovinocultura no Nordeste brasileiro

No Brasil, a procura por derivados da ovinocultura vem apresentando notável crescimento. Em contexto nacional, a população de ovinos se aproxima de 20 milhões. No Nordeste brasileiro, essa população é estimada em mais de 13 milhões. (IBGE, 2019). Contudo, apesar do Nordeste ter a maior parte da população de ovinos, ainda se apresenta financeiramente frágil, pois está amplamente ligada à criação de subsistência familiar (SEBRAE, 2005).

Na região Nordeste, a criação predominante de ovinos pertence às raças deslanadas, que são mais adaptadas ao clima tropical, pois apresentam uma maior rusticidade para produção de carne e pele (CARVALHO *et al.*, 2016), sendo considerada uma importante atividade pecuária no contexto socioeconômico, pois para pequenas e médias propriedades torna-se possível integrar a criação de ovinos a outras espécies e culturas dentro da mesma propriedade (EMERECIMENTO *et al.*, 2016).

Embora ainda não represente uma grande fração econômica no agronegócio brasileiro, o consumo de carne ovina tem apresentado um grande crescimento em todas as regiões do país, em função do aumento da procura pelos produtos cárneos ovinos nos grandes centros urbanos (SOUZA, 2009). O desenvolvimento da pecuária é atribuído a uma série de fatores que levam a mudanças no sistema de produção. Entre esses fatores, está a crescente demanda por produtos de origem animal (CEPEA, 2019).

O cenário da ovinocultura atual é resultado da modernização da cadeia produtiva nos últimos anos. Os avanços no nível tecnológico dos sistemas de produção voltados ao melhoramento genético, nutrição e saúde aumentaram não só a produtividade, mas também a qualidade, a competitividade e a abrangência da ovinocultura no mercado consumidor (LIRA *et al.*, 2017).

O clima semiárido é predominante da região nordeste, este se caracteriza por um período chuvoso, onde há abundância de alimentos com qualidade nutritiva das pastagens. Seguido de um período onde a seca é progressiva e há uma redução no suporte das pastagens, caindo não apenas sua disponibilidade, mas também a qualidade devido à lignificação (ARAUJO FILHO *et al.*, 1998).

Uma estratégia para melhorar o desempenho dos rebanhos de pequenos ruminantes do Nordeste com baixas taxas de produção seria o manejo nutricional adequado, principalmente em períodos de seca com escassez de ração, utilizando sistemas de produção intensivos, com confinamento ou semiconfinamento. Portanto, é necessário investigar a viabilidade da inclusão de fontes alternativas de alimentos e quantificar a resposta animal em termos de produção e economia, garantindo uma melhor rotatividade do sistema de carne ovina na região (CUNHA *et al.*, 2008).

2.2. Farelo de mamona

A mamona (*Ricinus communis L.*) é uma planta da família Euphorbiaceae que produz sementes ricas em óleo glicídico, solúveis em álcool (SANTOS *et al.*, 2013). São sementes oleaginosas de importância econômica e social para regiões áridas e semiáridas, demonstrando tolerância à seca, com uma exigência mínima de precipitação pluviométrica de 400 a 500 mm para desenvolvimento (TAVORA, 1982). As sementes têm diversos usos industriais, incluindo casca, farelo e torta de mamona, fornecendo rendimento de aproximadamente 45% de óleo e 55% de subproduto (MELO *et al.*, 2009).

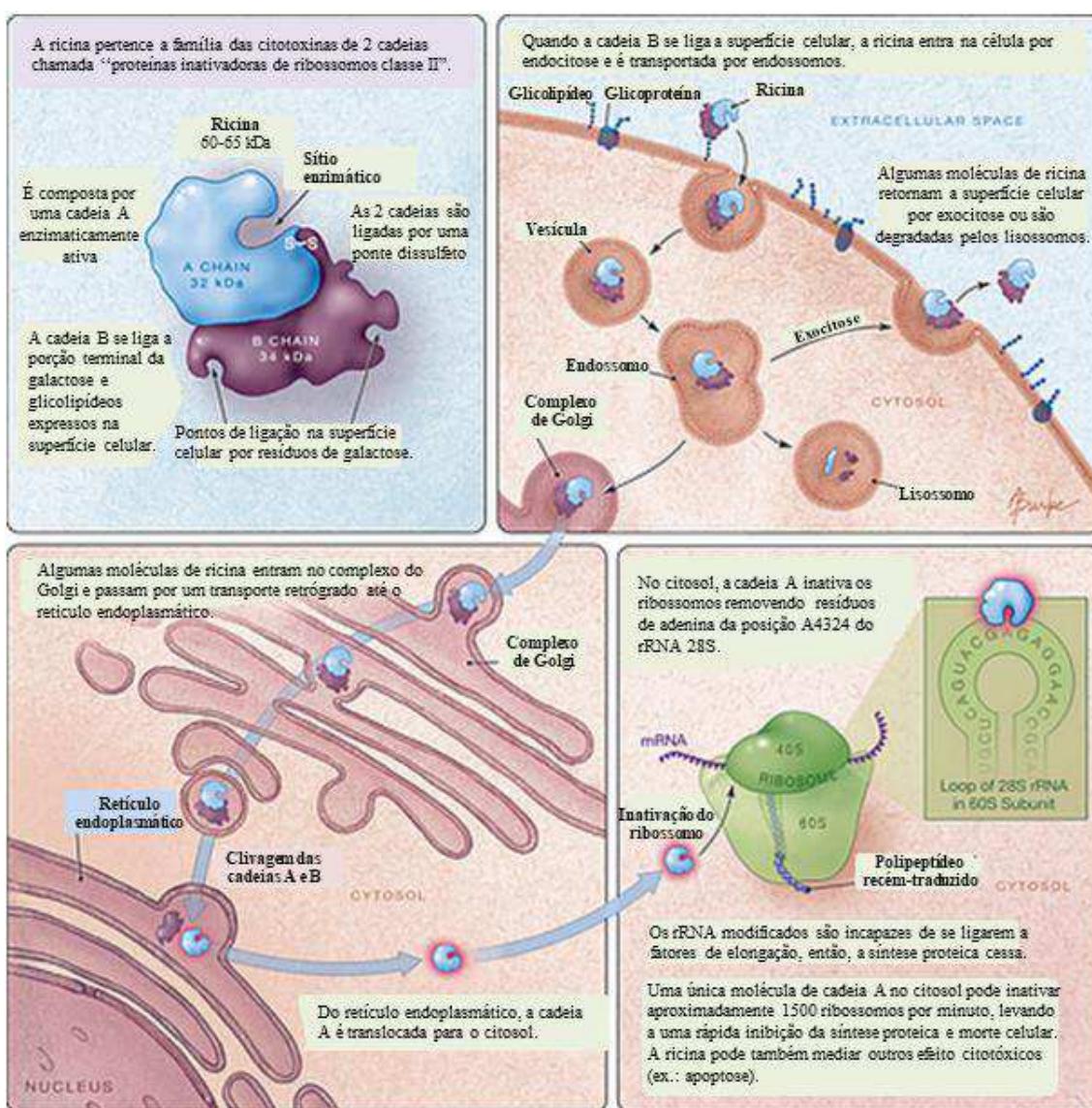
No Brasil, a mamona é utilizada para extração de óleo e fabricação do biodiesel (VIEIRA *et al.*, 2011). Os subprodutos da mamona derivados da fabricação do biodiesel tem potencial nutricional para ser utilizado na nutrição de ruminantes. A cadeia

produtiva do biodiesel gera coprodutos que podem ser utilizados como alimentos alternativos nas dietas dos animais. (WORBS *et al.*, 2011)

As principais formas do uso da mamona nas dietas animais são a torta e o farelo, sendo a principal diferença entre elas o extrato etéreo que possui um teor reduzido quando na forma de farelo, sendo mais facilmente extraído por meio da utilização de solventes orgânicos. A torta da mamona é obtida por meio de um processo mecânico de prensagem das sementes para extração do óleo. Contudo, a torta ainda possui teores residuais de óleo (7% a 12%). O farelo de mamona, por outro lado, é obtido pela extração do óleo por um processo químico, contendo um teor menor de óleo (cerca de 1%) (SEVERINO *et al.*, 2006).

Contudo, esses coprodutos derivados da extração do óleo da mamona possuem três compostos que são tóxicos aos animais: ricina, ricinina e *Castor Bean Allergen* (CB-1A). A ricina possui alta toxicidade (GARDNER *et al.*, 1960) e é uma proteína constituída por duas cadeias polipeptídicas (A e B). A cadeia A é uma proteína catalítica inativadora de ribossomos classe II (RIP II) e a cadeia B é uma lectina com especificidade para galactose (LORD; SPOONER, 2011; ROY *et al.*, 2015). A limitação do uso de ricina em dietas animais deve-se à sua atividade metabólica. A cadeia B se liga aos carboidratos presentes na membrana celular, favorecendo a fagocitose. Entrando na célula, as cadeias A e B são conduzidas ao complexo de Golgi através de vesículas endocíticas e, posteriormente, sofrem um transporte retrógrado até o retículo endoplasmático (AUDI *et al.*, 2005). No retículo endoplasmático, a cadeia A se separa da B e é translocada para o citosol, inibindo a atividade ribossomal pela remoção dos resíduos de adenina da posição A4324 do rRNA 28S em mamíferos, tornando-os incapazes de realizar a síntese proteica (WALSH; DODD; HAUTBERGUE, 2013). Esse mecanismo de ação foi ilustrado na figura 1.

Figura 1 - Mecanismo de citotoxicidade da ricina (AUDI *et al.*, 2005).



A relação de toxicidade entre a ricina e a RCA pode variar de 100 a 2000 vezes, sendo a citotoxicidade da ricina tão elevada a ponto de uma cadeia A poder ocasionar a morte celular devido à destruição dos ribossomos a uma velocidade superior à qual eles possam se renovar (OLSNES, S.; KOZLOV, 2001; WORBS, 2011).

Estudos indicam que a dose letal de ricina em humanos varia de 5 a 10 µg/kg de peso corporal nas vias de administração injetável e inalatória, enquanto por via oral essa dose foi estimada entre 1 e 20 mg/kg de peso corporal (KREUZER; WEST; EHLERINGER, 2013). O valor da dose letal, quando há ingestão, varia de acordo com

a sensibilidade do animal. Em frangos, a dose letal varia de 140 a 170 mg/kg de peso corporal; em suínos, a dose fica entre 13 e 65 mg/kg de peso corporal; nos coelhos, a dose é de 9 a 45 mg/kg de peso corporal. Os equinos são os mais sensíveis dentre as espécies estudadas, com dose letal entre 1 e 5 mg/kg de peso corporal (GARLAND; BAILEY, 2006).

Os principais sintomas de envenenamento incluem: paralisia da respiração e do sistema vasomotor, cólicas abdominais, diarreia, perda de apetite, aumento do ritmo cardíaco, ausência de coordenação dos movimentos, febre e hemorragia (TÁVORA, 1982).

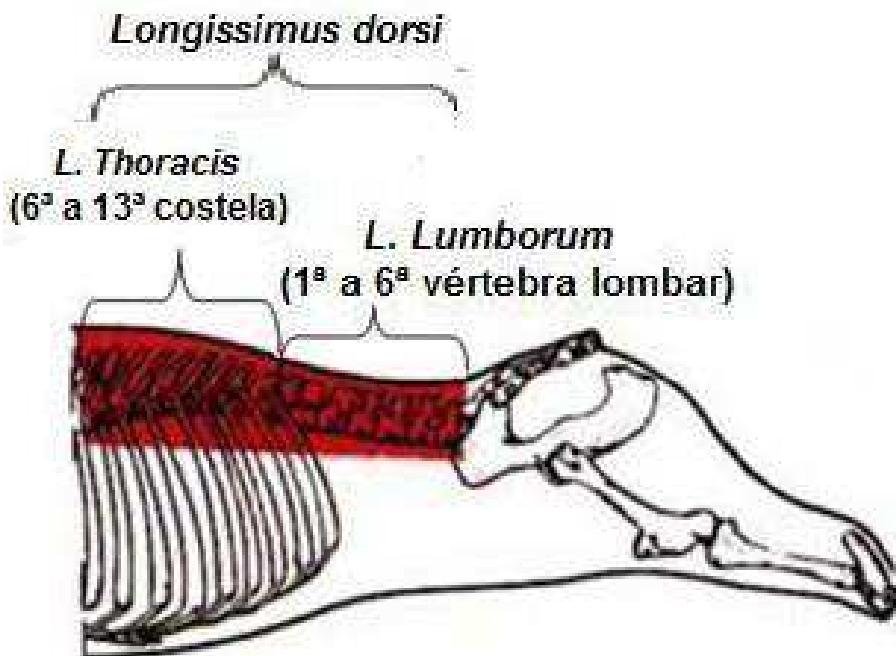
Os ruminantes apresentam maior tolerância à exposição a derivados de mamona na alimentação. A inclusão da torta de mamona sem tratamento para detoxificação na dieta de ovinos não apresentou perdas expressivas de consumo e digestibilidade para um nível de inclusão de 8% (FURTADO *et al.*, 2012). Foi relatado o uso da torta de mamona não detoxificada na dieta de caprinos jovens por longos períodos, em uma inclusão de 15% da dieta, substituindo a torta de soja sem comprometer as características da carne. A justificativa para não haver perdas no desempenho animal pode ser atribuída a baixas concentrações de ricina na dieta total ou à sua degradação durante o metabolismo animal (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

2.3. Músculo *L. dorsi*

O músculo estriado esquelético é responsável pela contração muscular voluntária do indivíduo e é composto principalmente de fibras musculares e tecido conjuntivo. A sua organização permite observar as estrias transversais ao microscópio óptico. O termo "esquelético" é derivado de sua localização, uma vez que está firmemente preso ao esqueleto por tendões (HAM *et al.*, 1983).

L. dorsi trata-se de um músculo que, quando convertido em carne, possui alto valor comercial. Por essa razão, vem sendo amplamente estudado em pesquisas para avaliação dos parâmetros de qualidade. Entre os músculos esqueléticos, o *L. dorsi* (Figura 2) destaca-se por ser o maior e mais longo do corpo, originando-se nos processos espinhosos e inserindo-se na última vértebra lombar (GETTY, 2000).

Figura 2 - Ilustração anatômica do músculo *L. dorsi* (CARDOSO, 2005)



Após o abate, imediatamente nos tecidos e em todos os órgãos, ocorrem mudanças nos processos bioquímicos em resposta à parada do sistema respiratório e da circulação sanguínea. Nos tecidos musculares, as mudanças morfológicas e estruturais, assim como as mudanças no metabolismo energético que ocorrem no período *post mortem*, têm sido bem descritas, e atualmente já se sabe que a taxa e a extensão com que os processos metabólicos *post mortem* são executados têm importante influência em características como a maciez, capacidade de retenção de água e propriedades sensoriais da carne (LAWRIE, 1998).

2.4. Impacto do pH na qualidade da carne

O potencial hidrogeniônico, mais conhecido como pH, pode influenciar a qualidade da carne, uma vez que, quando o animal é abatido, parte do seu metabolismo energético continua funcionando, porém em condições anaeróbias devido à falta de oxigenação. Na ausência de oxigênio, ocorrerá glicólise por meio anaeróbio pela utilização do glicogênio muscular, formando ácido lático, que é responsável pela queda do pH da carne (DAVIES, 1989).

No animal vivo, o pH normal pode oscilar entre valores de 7,3 a 7,5 (ZEOLA *et al.*, 2002); porém, quando abatido, espera-se que esse pH diminua de forma gradual até atingir um patamar de 5,4 (bovinos) de duas a oito horas após a sangria e de 5,5 a 5,8 (ovinos) (PRATES, 2000).

A queda do pH na conversão do músculo em carne é fundamental para prolongar seu tempo de conservação; um pH inadequado em níveis acima do desejado favorecerá o crescimento de microrganismos (MILLER, 2001). Essa alteração de pH pode ser causada quando o animal é submetido a estresse pré-abate, jejum prolongado ou esforço físico intenso, reduzindo seus estoques de glicogênio. Consequentemente, o músculo não sofrerá completamente o processo de produção de ácido lático por anaerobiose (WATANNABE *et al.*, 1996). Quando essa redução no pH não acontece de maneira correta, o músculo pode se converter em uma carne escura, firme e seca (*DFD*) (ZEOLA *et al.*, 2007).

Animais submetidos a estresse intenso no período que antecede o abate são propensos a apresentarem carne do tipo pálida, macia e exsudativa (*PSE*). Esses animais depletam seus estoques de glicogênio em consequência da aceleração no processo de glicólise, causando uma rápida queda do pH muscular devido à intensa produção de ácido lático (MILLER, 2001). Na suinocultura, a carne do tipo *PSE* está ligada

principalmente à genética. A presença do gene halotano se destaca pela produção de uma carne mais magra, porém há evidências de que animais que possuem esse gene são mais sensíveis ao estresse pré-abate, produzindo carne PSE (CULAU *et al.*, 2002).

Figura 3 - Exemplos de carne PSE, Normal e DFD.



2.5. Proteínas do músculo *L. dorsi*

As proteínas dos músculos podem ser divididas em três classes: miofibrilares, sarcoplasmáticas e estromáticas. As proteínas miofibrilares são as que estão em maior quantidade no músculo (52% a 56%) e são representadas principalmente pela miosina, actina, proteína C, proteína M, tropomiosina, α -actina e β -actina. São proteínas, em sua maioria, insolúveis, que formam os miofilamentos grossos e finos que constituem a miofibrila e desempenham a função de contração muscular (SGARBIERI, 1996).

As proteínas sarcoplasmáticas são aquelas encontradas no citoplasma (sarcoplasma) das miofibras (células musculares), constituindo 25 a 30% de todas as proteínas musculares e responsável por funções metabólicas, representadas principalmente pelas enzimas glicolíticas e mioglobina. Elas geralmente são consideradas solúveis em água, especialmente em baixas concentrações de sal. Representam todas as enzimas envolvidas na via glicolítica e a maior parte das proteínas envolvidas no mecanismo de síntese de proteínas e glicogênio (LUCIARI FILHO, 2000).

As proteínas do tecido conjuntivo, também chamadas de estromáticas, correspondem a 10% a 15% de toda a proteína dos músculos esqueléticos. Essas proteínas são menos solúveis em água. O colágeno e a elastina representam a maior parte da fração proteica estromática. Os colágenos representam 40% a 60% do estroma e são caracterizados pelo elevado conteúdo de glicina, prolina e hidroxiprolina, e pela completa ausência de aminoácidos sulfurados e de triptofano (SGARBIERI, 1996).

O principal mecanismo enzimático no processo de conversão do músculo em carne, responsável pela maciez da carne, é o sistema das calpaínas. Esse sistema enzimático representa 90% da importância no processo de maciez (GOLL *et al.*, 1992). Para Dransfield (1993), esse processo representou 65% da variação na maciez da carne.

As catepsinas são enzimas proteolíticas que têm afinidade por pH ácido e estão presentes nos lisossomos. Durante o processo de rigor mortis, elas usam como substratos a actina, a miosina e a linha Z. As catepsinas conseguem atuar de maneira eficaz quando o pH < 6,0. Elas degradam tanto proteínas miofibrilares quanto proteínas do tecido conjuntivo (colágeno) (KOOHMARAIE, 1994).

O sistema enzimático das calpaínas é formado por duas calpaínas: proteinase ativada por concentração micromolar de cálcio (μ -calpaína ou calpaína tipo I) e proteinase ativada por concentração milimolar de cálcio (m-calpaína ou calpaína tipo II), ativadas pelo cálcio livre (não retido no retículo sarcoplasmático ou nas mitocôndrias) e inibidas pela enzima denominada calpastatina (KOOHMARAIE, 1992).

As investigações proteômicas desempenham um papel importante na pesquisa de qualidade da carne, pois o objetivo final da criação de animais é a produção de proteína de alta qualidade para consumo humano (NAIR *et al.*, 2016). Estudos feitos por Desai *et al.* (2016) listaram proteínas presentes em carnes do tipo pálidas, moles e exsudativas (*PSE-like*) de frango. Demonstraram que, quando elevadas, enzimas que participam da

via glicolítica (fosfoglicerato quinase, beta-enolase, piruvato quinase) e outras proteínas ligadas ao metabolismo energético (creatina quinase tipo-M, subunidades alfa da proteassoma, malato desidrogenase) podem gerar também uma rápida queda do pH e, consequentemente, favorecer a produção de carnes *PSE-like*.

A cor da carne é um importante atributo de qualidade que influencia as decisões de compra dos consumidores no ponto de venda (MANCINI; HUNT, 2005). Os consumidores costumam considerar a cor vermelho-cereja da carne fresca como um indicador confiável de salubridade. Durante a exibição no varejo, as carnes vermelhas frescas sofrem descoloração, resultando em perda de valor devido à redução de preço (SMITH *et al.*, 2000).

O proteoma sarcoplasmático contém proteínas solúveis, incluindo mioglobina e enzimas, constituindo 30% das proteínas totais do músculo esquelético, e participa de diferentes processos bioquímicos que influenciam a estabilidade da cor da carne. As interações interinfluenciais entre a mioglobina e as proteínas sarcoplasmáticas são críticas para a estabilidade da cor da carne (RENERRE *et al.*, 1996; KIM *et al.*, 2006). O proteoma sarcoplasmático pode ser diferencialmente abundante nos músculos da carne com cores instáveis e estáveis.

Joseph *et al.* (2012) realizaram um estudo em bovinos comparando músculos de alta estabilidade na coloração e músculos de baixa estabilidade na coloração. Demonstraram que músculos com coloração estável expressaram as proteínas aldose redutase, creatina quinase, beta-enolase e piruvato desidrogenase em níveis mais elevados. Por outro lado, em músculos com coloração instável, a proteína com expressão elevada foi a aconitase mitocondrial.

De acordo com Nair *et al.* (2016), em um estudo realizado com músculo semimembranoso bovino, cortes de carnes com menor estabilidade em relação à

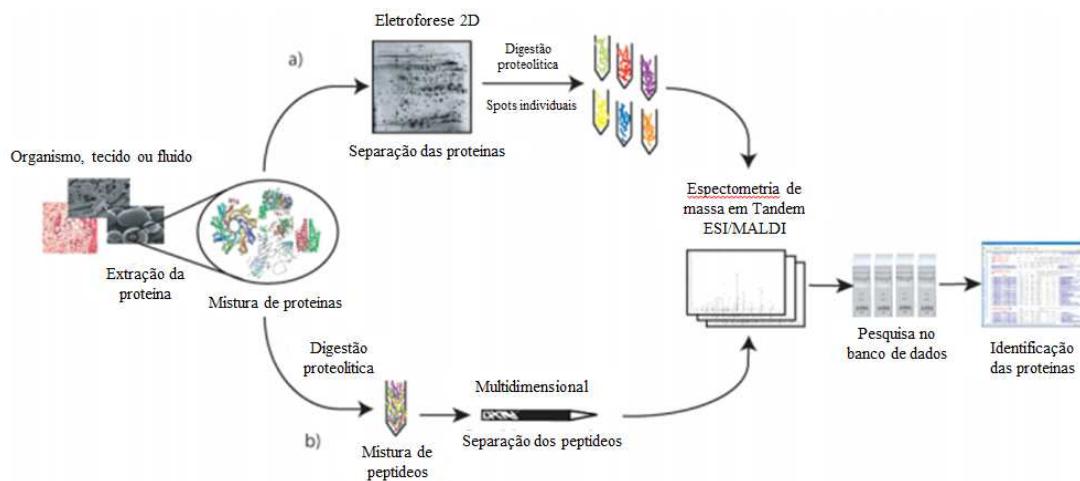
coloração expressaram elevados níveis de enzimas glicolíticas (frutose bifosfato, aldolase A, fosfoglicerato mutase 2, beta-enolase). Esse aumento da atividade glicolítica causado pelas enzimas supracitadas pode estar relacionado a um rápido declínio do pH enquanto a temperatura da carne ainda está alta, ocasionando condições *PSE-like* na carne.

2.6. Análises proteômicas do tipo *Bottom-up* e *Top-down*

As abordagens do tipo *bottom-up* envolvem uma digestão proteolítica antes da identificação das proteínas por espectrometria de massas. A informação "*bottom-up*" significa que a identificação da proteína é feita a partir de fragmentos de peptídeos que são sequenciados individualmente e, através do sequenciamento dos aminoácidos, a proteína é identificada. É a abordagem mais utilizada no mundo para identificação e caracterização de proteínas, porém apresenta uma menor cobertura na identificação das proteínas (FOURNIER *et al.*, 2007).

A Figura 4 ilustra a abordagem *bottom-up*. Pela abordagem utilizando gel, a mistura de proteínas é separada por eletroforese bidimensional, primeiro por focagem isoelétrica seguida por SDS-PAGE. Após a visualização dos spots, as proteínas são extraídas do gel, digeridas e analisadas por espectrometria de massa para posterior identificação por pesquisa em banco de dados. Pela abordagem sem gel, a mistura de proteínas é diretamente digerida em uma mistura de peptídeos separada por métodos de separação multidimensional. Os peptídeos são analisados em seguida por espectrometria de massa. As proteínas são identificadas a partir dos espectros de massa gerados usando pesquisa de banco de dados (FOURNIER *et al.*, 2007).

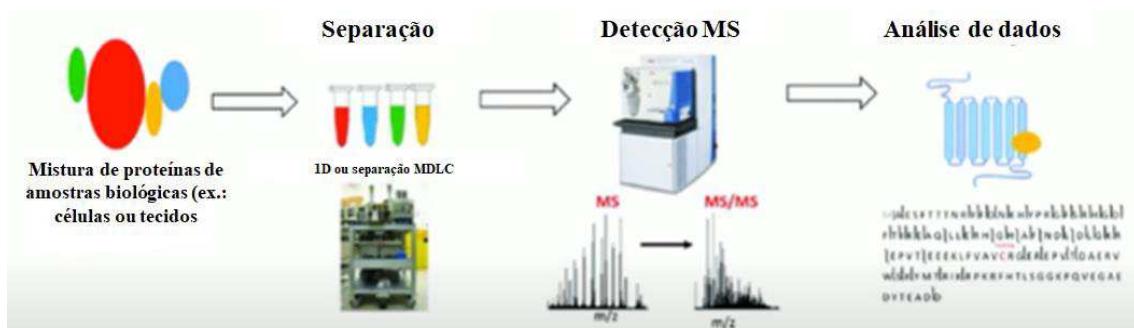
Figura 4 - Análise proteômica *bottom-up* por: (a) abordagens baseadas em gel e (b) sem gel. (FOURNIER *et al.*, 2007).



Na abordagem *top-down*, as proteínas podem ser caracterizadas em sua forma intacta a partir de amostras complexas. Nessa abordagem de identificação de proteínas, o espectrômetro de massa de captura de íons é utilizado para armazenar um íon de proteína isolado para a medição de massa e análise por espectrometria de massa em tandem (MS/MS) (Kelleher, 2014), ou outros métodos de purificação de proteínas, como a eletroforese em gel bidimensional em conjunto com MS/MS (Wright *et al.*, 2014).

A figura 5 ilustra como funciona a abordagem *top-down*. Misturas de proteínas de amostras biológicas são extraídas de células ou tecidos e, em seguida, podem ser separadas por cromatografia líquida ou gel de poliacrilamida. Essas misturas podem ser

Figura 5 - Análise proteômica tipo *top-down* (LINDON, 2016).



encaminhadas para detecção por espectrometria de massa sem a necessidade de digestão tríptica das proteínas (LINDON, 2016). Nessas técnicas, é possível sequenciar uma proteína completa, localizar e caracterizar modificações pós-traducionais e determinar isoformas de proteínas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Design experimental

No presente estudo, 24 ovinos das raças Santa Inês e Morada Nova foram alimentados durante 77 dias com FS, FMD e FMDP. Ao final do experimento, amostras do músculo *L. dorsi* foram coletadas de todos os animais e submetidas à análise proteômica utilizando eletroforese em gel unidimensional, espectrometria de massa e recursos de bioinformática.

3.2. Animais e localização do experimento

O estudo foi previamente aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA/UFC), sob o número de protocolo 3155291019. Foram utilizados 24 ovinos machos, sendo 12 da raça Morada Nova, pertencentes ao rebanho do Núcleo de Ensinos e Estudos em Forragicultura (NEEF), localizado no Campus do Pici, Fortaleza-CE, e 12 da raça Santa Inês, oriundos do rebanho da Fazenda Experimental Vale do Curú, localizada no município de Pentecoste-CE. Antes do início do tratamento, os animais foram vermifugados e receberam vitaminas A, D e E por via subcutânea. O experimento foi conduzido no NEEF, UFC – Campus do Pici, Fortaleza-CE, localizado em 3°44'34.0"S 38°34'41.3"W, nos meses de janeiro a março de 2020, com duração de 77 dias.

3.3. Tratamentos e coleta das amostras

O beneficiamento da semente de *R. communis* para a obtenção do farelo de mamona foi realizado pela indústria Azevedo Óleos Ltda., localizada no município de Itupeva, SP. O método baseia-se em cinco etapas. Inicialmente, a semente é aquecida a 80 °C por condução, por aproximadamente 10 minutos. Após esse aquecimento, ocorre

a primeira prensagem, do tipo expeller, dando origem à torta de mamona, ainda com resíduos de óleo. Em seguida, ocorre uma segunda prensagem, do tipo *expeller expensor*, tornando o prensado mais poroso devido à alta pressão exercida. Posteriormente, o material é levado ao processo de extração com solvente (hexano) e submetido a 12 lavagens sucessivas. Por fim, ocorre a remoção do solvente por evaporação, aquecendo o material a 95 °C até que o restante do solvente seja removido, tornando o material seguro para consumo por ruminantes. Para a obtenção do FMDP, foi realizado um peneiramento com uma peneira de 30 mesh (orifícios de 0,5 mm²), com o objetivo de remover resíduos e aumentar o teor proteico.

Os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial 3x1 para cada raça, sendo três diferentes dietas compostas por FS, FMD, FMDP e capim-tifton 85 (*Cynodon sp.*) como volumoso (Tabela 1), fornecidas aos ovinos das raças Morada Nova e Santa Inês, considerando cada animal como uma repetição.

Tabela 1. Composição alimentar das dietas experimentais utilizadas no experimento.

Composição alimentar	FS	FMD	FMDP
Fubá de milho	47,00%	49,78%	51,45%
Feno Tifton 85	40,00%	40,00%	40,00%
FS	10,70%	0%	0%
FMD	0%	9,20%	0%
FMDP	0%	0%	7,73%
Calcário	1,00%	0, 62%	0, 71%
Ureia	0,10%	0,40%	0,10%

Legendas: Farelo de soja (FS); Farelo de mamona dessolventizado (FMD); Farelo de mamona dessolventizado peneirado (FMDP).

Fonte: Tabela de dados previamente publicados em boletim de pesquisa por Pompeu (2020).

As dietas foram formuladas com uma relação volumoso:concentrado de 40:60, sendo isoproteicas e isoenergéticas, com cálculo para ganho de peso diário de 200 g/dia. Os fornecimentos aconteciam duas vezes ao dia (8h e 16h), e os ajustes das dietas eram feitos diariamente, baseados nas pesagens das sobras de ração de cada animal, permitindo uma margem de até 10%, conforme recomendações do *National Research Council* (NRC, 2007).

Os animais foram mantidos em baias individuais de madeira, com área de aproximadamente 1,12 m², durante 77 dias, dos quais os 14 primeiros dias foram destinados à adaptação dos animais às dietas e ao ambiente experimental. As baias foram dotadas de cochos para o fornecimento do alimento, bebedouros com água à disposição e sal mineral *ad libitum*. Esses animais foram pesados semanalmente durante todo o período experimental até atingirem o peso de abate, aproximadamente 30 kg.

Ao final do experimento, os cordeiros foram pesados e abatidos em um matadouro comercial, de acordo com as normas do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA, 1980; OLIVEIRA *et al.*, 2015), estabelecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil. As amostras de músculo *L. dorsi* foram colhidas nos primeiros 10 minutos após o abate, por meio de um corte transversal na topografia anatômica entre a 12^a e a 13^a costela, sendo o lado esquerdo escolhido para análise. Foram coletados cerca de 10 gramas de amostra por animal. Após a coleta, as amostras foram imediatamente armazenadas em botijão criogênico contendo nitrogênio líquido e levadas ao Laboratório de Fisiologia Animal da Universidade Federal do Ceará.

3.4. Extração das proteínas

As amostras de músculo *L. dorsi* armazenadas a -80 °C foram liofilizadas (Liofilizador L101 – Liptop/Liobras, São Carlos, SP, BR) a -55 °C e a uma pressão atmosférica de 0,035 mBar durante um período de 24 horas. Posteriormente, o extrato muscular foi pesado novamente, triturado em um mini processador manual (Mini Wincy, Bauru, SP, BR) e peneirado até a obtenção de um pó fino. Este material resultante foi armazenado em tubos estéreis e mantido a -20 °C até que fosse realizada a extração das proteínas (BJARNADÓTTIR *et al.*, 2010).

O processo de extração das proteínas iniciou-se com a pesagem de 10 mg de cada amostra liofilizada de músculo. Em seguida, foi adicionado 100 µL de água destilada contendo 1% (vol/vol) de Triton X-100 (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) e as amostras foram mantidas sob refrigeração a 5 °C por um período de 60 minutos, com leve agitação em intervalos de 15 minutos.

Posteriormente, foram adicionados 400 µL de tampão de amostra (7 M de ureia, 2 M de tioureia, 4% de 3 - [(3-colamidopropil) dimetilamônio] -1-propanossulfonato (CHAPS), 2% de tampão IPG pH 4-7, 40 mM DTT [ditiotreitol] – GE Healthcare, Piscataway, NJ, EUA). As amostras foram sonicadas (Fisher Scientific™ CPXH5 Series Baths, Pittsburgh, PA, EUA) a 120W, frequência de 40 kHz, a 4 °C durante 5 minutos, depois centrifugadas (5.000 g, 60 minutos, 4 °C) e o pellet ressuspensos em 400 µL de tampão de amostra.

Após a ressuspensão, as amostras foram precipitadas com acetona fria (Neon, Suzano, SP, BR) a -20 °C, utilizando 10 vezes o volume das amostras. As amostras foram mantidas a -20 °C durante a noite. No dia seguinte, esse material foi submetido a uma nova centrifugação (5.000 g, 40 minutos, 4 °C), os sobrenadantes foram descartados e as amostras foram mantidas na geladeira durante a noite para secagem. No

dia seguinte, as amostras foram novamente ressuspendidas em 400 µL de tampão de amostra e levadas para quantificação, utilizando o método de Bradford (1976).

3.5. Eletroforese unidimensional (SDS-PAGE) e análises computacionais

As proteínas obtidas das amostras de *L. dorsi* foram separadas por 1D SDS-PAGE, conforme descrito previamente (MARTINS *et al.*, 2013). Em resumo, 30 µg de proteínas do *L. dorsi* de cada animal foram diluídos em tampão de amostra (Tris-HCl 0,125 M; pH 6,8; SDS 4%; glicerol 20% (v/v); DTT 0,2 M; azul de bromofenol 0,02%; GE Healthcare, Piscataway, NJ, EUA) até atingir o volume de 20 µL, fervidos por 90 segundos e então pipetados nos poços do gel de concentração (4% de poliacrilamida). Para o gel de corrida, foi utilizado um gradiente de 12,5%. Para as aferições de peso molecular, foram transferidos 10 µL de Amersham ECL Full-Range Rainbow (GE Healthcare, Piscataway, NJ, EUA) para um poço de cada gel. O equipamento utilizado foi o sistema SE 600 Ruby™ (GE Healthcare, Piscataway, NJ, EUA), com uma configuração de 500 V, 20 mA/gel, 90 W. Após o término da corrida eletroforética, os géis foram submersos em uma solução corante de azul brilhante de Coomassie [CBB-R250] (Bio-Rad Laboratories Inc., UK) por um período de 12 horas e, em seguida, descoloridos com uma solução descolorante de metanol (40%), ácido acético (7%) e água destilada (53%), com trocas sucessivas da solução a cada 30 minutos. Após a descoloração, o gel foi digitalizado a 300 dpi (Image Scanner, GE Healthcare, Piscataway, NJ, EUA) e salvo como um arquivo TIFF. A análise das intensidades do gel foi feita utilizando o software Quantity One® v.4.6.3 (Bio-Rad, Rockville, MD, EUA).

3.6. Digestão das proteínas e espectrometria de massa (Eletrospray ionization Quadrupole – Time of Flight / ESI-Q-TOF)

Utilizando o software Quantity One® v.4.6.3 (Bio-Rad, Rockville, MD, EUA), as bandas foram identificadas e delimitadas. As bandas foram cortadas em pedaços de 1 mm³ e submetidas à digestão com tripsina (Promega, Fitchburg, WI, EUA) (MOURA *et al.*, 2006; ROCHA *et al.*, 2009). Utilizando um bisturi estéril, os géis foram cortados e acondicionados em tubos Eppendorf de 500 µL. Cada banda foi cortada no mínimo três vezes por *lane*, dependendo da sua intensidade. Os pedaços foram descoloridos com 400 µL de acetonitrila 50% (ACN)/25 mM de bicarbonato de amônio, pH 8,0, realizando 3 lavagens de 15 minutos cada.

Após a descoloração, os pedaços de gel foram desidratados utilizando 200 µL de acetonitrila 100% por 5 minutos e secados em Speedvac (Eppendorf, EUA) por 15 minutos. Para redução, foram utilizados 100 µL de ditiotreitol (DTT) 10 mM/bicarbonato de amônio 100 mM por 30 minutos em temperatura ambiente. Para alquilação, foi adicionado 100 µL de iodoacetamida 50 mM/bicarbonato de amônio 100 mM por 30 minutos em temperatura ambiente. Após isso, os pedaços foram desidratados e secos em Speedvac (Eppendorf, EUA) para receber a tripsina. Após a secagem, os pedaços de gel foram incubados com tripsina (Promega, Madison, WI, EUA) *overnight* a 37º C.

Os peptídeos oriundos da digestão tríptica foram analisados conforme a metodologia descrita por Tilburg *et al.*, 2013. Os peptídeos (5 µL) foram injetados em solvente A (acetonitrila:água:ácido fórmico, na proporção de 5:94,9:0,1, respectivamente) utilizando a bomba auxiliar da unidade de UPLC para interagir com uma coluna Waters Symmetry 300™ (C-18, filme de 5 µm; 0,3 mm × 5 mm) para dessalinização em linha e pré-concentração. Após a lavagem por 3 minutos com

solvente A a 5 mL/min, os peptídeos foram eluídos em um gradiente de concentração para a coluna analítica nanoACQUITY HSS T3 (C-18, 0,075 mm × 150 mm). A coluna analítica foi corrida em um gradiente (5 a 42% de solvente B; acetonitrila:água:ácido fórmico, na proporção de 95:5:0,2, durante 40 minutos). O espectrômetro de massa foi calibrado utilizando fragmentos de íons do peptídeo Glu-1-fibrinopeptídeo B (Glu-Fib), para manter a precisão em 10 partes por milhão. O espectrômetro de massas foi operado para obter espectros MS/MS dos peptídeos trípticos em modo dependente de dados (data-dependent acquisition; DDA) para o íon precursor, usando reconhecimento de estado de carga e limite de intensidade como critérios de seleção, com o aplicativo MassLynx 4.1. Para obter os dados MS/MS, uma varredura (2 seg.) foi executada nos dados de relação massa/carga (m/z) entre 400 e 1500. A partir de cada varredura, baseando-se nos critérios de seleção, foram escolhidos até quatro íons mais intensos para obtenção dos espectros resultantes da dissociação induzida por colisão (CID) na presença de argônio. Os espectros iônicos resultantes (6-8 seg.) foram processados utilizando o aplicativo Protein Lynx Global Server 2.4 e convertidos em arquivos de lista de picos (peak list files; PKL) para posterior pesquisa em banco de dados.

Os arquivos (.PKL) obtidos através do programa Protein Lynx Global Server 2.4 (Waters Corp.) foram analisados através do Mascot (Matrix Science, Londres, UK, v.2.6), utilizando o banco de dados SwissProt. Os critérios utilizados para análise foram: enzima tripsina (máximo de 1 clivagem), modificação variável (oxidação de metionina), modificação fixa (carbamidometilação das cisteínas), cargas peptídicas (+1, +2, +3), limites entre a variação de massa dos peptídeos dos fragmentos foram de $\pm 1,2$ Da e $\pm 0,6$ Da, máximo de taxa de descoberta falsa (FDR) de 0,05 e número mínimo de um peptídeo para validar a identificação das proteínas.

3.7. Análises estatísticas

Os dados de densitometria dos picos dos géis foram obtidos através do software Quantity One® v.4.6.3 (Bio-Rad, Rockville, MD, EUA), convertidos para logaritmo na base 10 e submetidos ao teste de análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey para comparação de médias. Isso foi feito para estabelecer as diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os tratamentos nas duas raças.

3.8. Gene ontology, análises dos *clusters* funcionais e rede de interações proteína-proteína *in silico*

As análises de ontologia gênica para as funções biológicas das proteínas foram obtidas a partir da base de dados UniProtKB. Para as proteínas identificadas no Mascot (Matrix Science, Londres, UK, v.2.6) que apresentaram diferenças estatísticas nos dados de densitometria, a análise foi complementada com a base de dados STRING 10.0 (<http://string-db.org>).

Os termos de ontologia gênica referentes a processos biológicos, componentes celulares, funções moleculares e classes de proteínas foram obtidos utilizando o Protein Analysis Through Evolutionary Relationships (PANTHER Classification System, versão 16.0; <http://geneontology.org>).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises previamente realizadas por Pompeu (2020) revelaram que não houve diferença estatística no ganho de peso e na conversão alimentar em função das dietas contendo FS, FMD e FMDP (Tabela 2).

Tabela 2. Desempenho dos ovinos para ganho de peso e conversão alimentar alimentados com FS, FMP e FMDP.

	FS	FMP	FMDP
Peso inicial (kg)	19,86	18,11	18,84
Peso final (kg)	33,50	31,19	31,60
GPT (kg)	13,64	13,07	12,76
CA ($\text{kg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	4,98	4,71	4,48

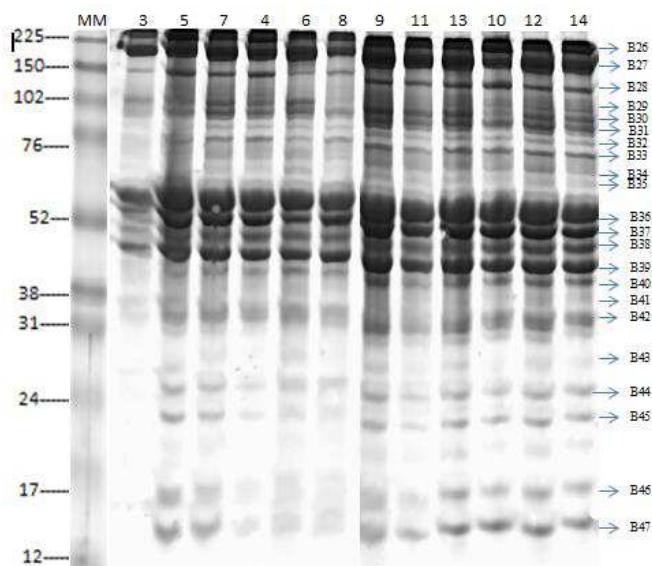
Legendas: Farelo de soja (FS). Farelo de mamona dessolventizado (FMD). Farelo de mamona dessolventizado peneirado (FMDP). Ganho de peso total (GTP). Conversão alimentar (CA).

Fonte: Tabela adaptada de dados previamente publicados em boletim de pesquisa por Pompeu (2020).

Esse resultado corrobora com o estudo de Oliveira *et al.* (2015), que avaliou dietas compostas por farelo de soja e torta de mamona em caprinos e observou que não houve comprometimento no desempenho dos animais. Assim, de acordo com o método de detoxificação utilizado pela Azevedo Óleos Ltda., o consumo de farelo de mamona em dietas para pequenos ruminantes pode ser considerado seguro para os níveis de inclusão dos insumos especificados na Tabela 1.

De acordo com a análise do perfil eletroforético das proteínas do músculo *L. dorsi* dos ovinos da raça Morada Nova (Figura 6), foram evidenciadas 22 bandas, com a identificação de 70 proteínas por espectrometria de massas (Anexo A).

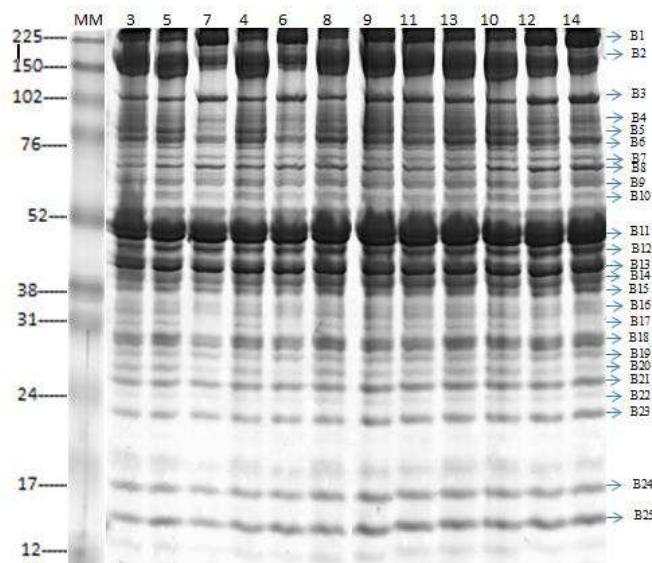
Figura 6 - Gel de eletroforese SDS-PAGE 12,5% de proteínas do músculo *L. dorsi* de ovinos machos da raça Morada Nova.



Legendas: MM – Marcador de peso molecular. Farelo de soja - 3, 4, 9,10.). Farelo de mamona dessolventizado - 5, 6, 11, 12. Farelo de mamona dessolventizado peneirado - 13, 14, 7, 8.
Fonte: Elaborado pelo autor.

No perfil eletroforético dos ovinos da raça Santa Inês (Figura 7), foram detectadas 25 bandas, com a identificação de 68 proteínas (Anexo B).

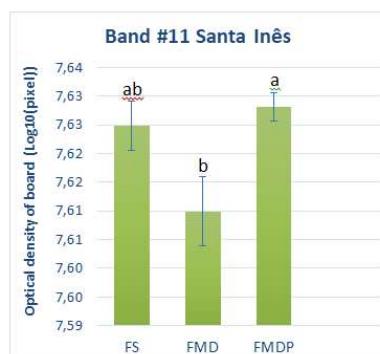
Figura 7 - Gel de eletroforese SDS-PAGE 12,5% de proteínas do músculo *L. dorsi* de ovinos machos da raça Santa Inês.



Legendas: MM – Marcador de peso molecular. Farelo de soja - 3, 4, 9,10. Farelo de mamona dessolventizado - 5, 6, 11, 12. Farelo de mamona dessolventizado peneirado - 13, 14, 7, 8.
Fonte: Elaborado pelo autor.

As bandas presentes no perfil eletroforético dos ovinos da raça Morada Nova não apresentaram diferenças relacionadas às dietas. Em contraste, no caso dos ovinos Santa Inês, apenas uma banda apresentou diferença estatística entre os tratamentos FMD e FMDP (Figura 8).

Figura 8 - Expressão diferencial das bandas de proteínas do músculo *L. dorsi* de ovinos da raça Santa Inês. As barras representam a intensidade média (Média ± SEM) das bandas expressas em cada tratamento. FS: Farelo de soja; FMD: Farelo de mamona dessolventizado; FMDP: Farelo de mamona dessolventizado peneirado. As letras (a,b) representam o efeito do tratamento ($p<0,05$).



Para os ovinos da raça Santa Inês, foram identificadas quatro proteínas na banda com valor diferencial: *Creatine kinase M-type*, *Actin (alfa skeletal muscle)*, *Beta-enolase* e *Phosphoglycerate kinase*.

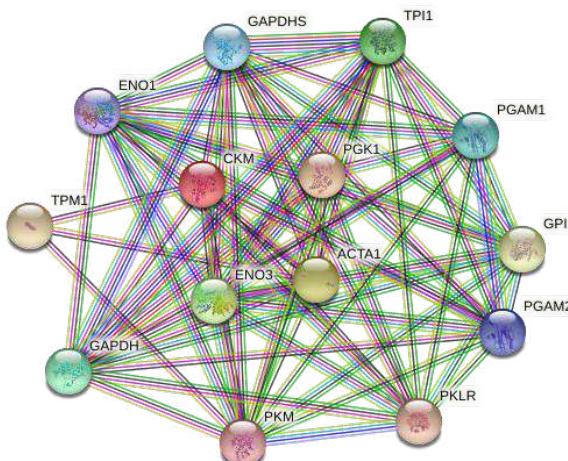
As actinas são um grupo de proteínas compostas por três principais isoformas: alfa, beta e gama. Entre estas, as actinas alfa são encontradas no tecido muscular e constituem a maior parte do aparato contrátil dos músculos dos animais. Em contraste, os outros grupos, beta e gama, desempenham funções relacionadas à sustentação e motilidade celular. A actina, juntamente com a miosina, são as principais proteínas envolvidas no processo de rigor mortis, que ocorre quando há o esgotamento dos estoques de energia no músculo e a formação das pontes cruzadas entre essas duas proteínas (CANHOS; DIAS, 1985).

O processo de transformação do músculo em carne ocorre por meio da liberação de enzimas proteolíticas que induzem a degradação dos principais componentes que causam a rigidez muscular, como o enfraquecimento da linha Z, a degradação da estrutura miofibrilar e outras proteínas residuais do músculo, incluindo desmina, nebulina e titina (ALVES *et al.*, 2005). Entre os processos enzimáticos proteolíticos, as catepsinas são as principais responsáveis pela degradação da actina, miosina e da linha Z (KOOHMARAIE, 1994). No presente estudo, os níveis de actina foram detectados em maior quantidade no grupo da dieta FMDP, o que pode impactar diretamente a maciez da carne. Oliveira *et al.* (2015) também encontraram níveis elevados de actina no *L. dorsi* de caprinos alimentados com torta de mamona.

A proteína beta-enolase parece ter uma função relacionada ao desenvolvimento e à regeneração do músculo estriado esquelético de bovinos. Essa proteína está envolvida na via glicolítica, atuando na conversão do 2-fosglicerato em fosfoenolpiruvato, que sintetiza piruvato para produção de energia (HOORN; FLIKWEERT; STAAL, 1974). A beta-enolase foi correlacionada positivamente com a estabilidade da coloração da carne em um estudo feito com *Longissimus lumborum* em bovinos. No entanto, essa correlação foi negativa quando com a análise foi feita músculo psoas, apresentando maior instabilidade na coloração (JOSEPH *et al.*, 2012). Para Nair *et al.* (2016), a abundância de beta-enolase, analisada a partir do músculo semimembranoso bovino, pode causar uma baixa estabilidade da coloração da carne. Esta instabilidade na coloração pode ser atribuída à participação da beta-enolase na via glicolítica, pois, quando abundante, a beta-enolase causa uma rápida queda do pH *post mortem* devido a produção excessiva de ácido láctico decorrente do rápido consumo de glicogênio, podendo causar a alterações *Pale, Soft and Exudative-like (PSE)* em bovinos. Na rede

de interações (Figura 9), a beta-enolase possui *links* com proteínas ligadas ao metabolismo energético como a PGK1, CKM, ENO1, GPI, GAPDH, GAPDHS.

Figura 9 - Rede de interação das proteínas diferenciais CMK, ACTA1, ENO3, PGK1 e das 10 proteínas de maior interação do músculo *L. dorsi* de *Ovis aries* das raça Santa Inês, analisadas pelo STRING software.



CKM: Creatine kinase M-type. ACTA1: Actin (alpha skeletal muscle). ENO3: Beta-enolase. PGK1: Phosphoglycerate kinase 1. TPI1: Bos taurus triosephosphate isomerase 1. GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. PGAM1: Phosphoglycerate mutase 1. GAPDHS: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. PGAM2: Phosphoglycerate mutase 2. ENO1: Alpha-enolase. PKM: Bos taurus pyruvate kinase. PKLR: Bos taurus pyruvate kinase. TPM1: Tropomyosin alpha-3 chain. GPI: Glucose-6-phosphate isomerase.

A fosfoglicerato quinase 1 (PGK1) é uma enzima que atua na produção de ATP na via glicolítica, por meio da conversão reversível de 1,3-difosfoglicerato em 3-fosfoglicerato. Um estudo realizado por Desai *et al.* (2016) associou a presença elevada de PGK1 com defeitos na carne de frango, indicando que quantidades elevadas dessa enzima estão associadas a carnes do tipo *PSE-like*. Isso ocorre porque o aumento da atividade glicolítica provoca uma rápida diminuição do pH *post mortem*.

A análise de ontologia gênica é um sistema de classificação que visa definir e descrever as funções gênicas e proteicas em diferentes espécies (CARBON *et al.*, 2009). As análises para ontologia gênica estão apresentadas para as raças Morada Nova (Figura 10) e Santa Inês (Figura 11).

Figura 10 - Funções moleculares, processos biológicos, componentes celulares e classes das proteínas do músculo *L. dorsi* de ovinos da raça Morada Nova identificadas por espectrometria de massa ESI-Q-TOF. Os dados de proteína foram analisados utilizando o software GeneOntology Resource Panther™ 16.0.

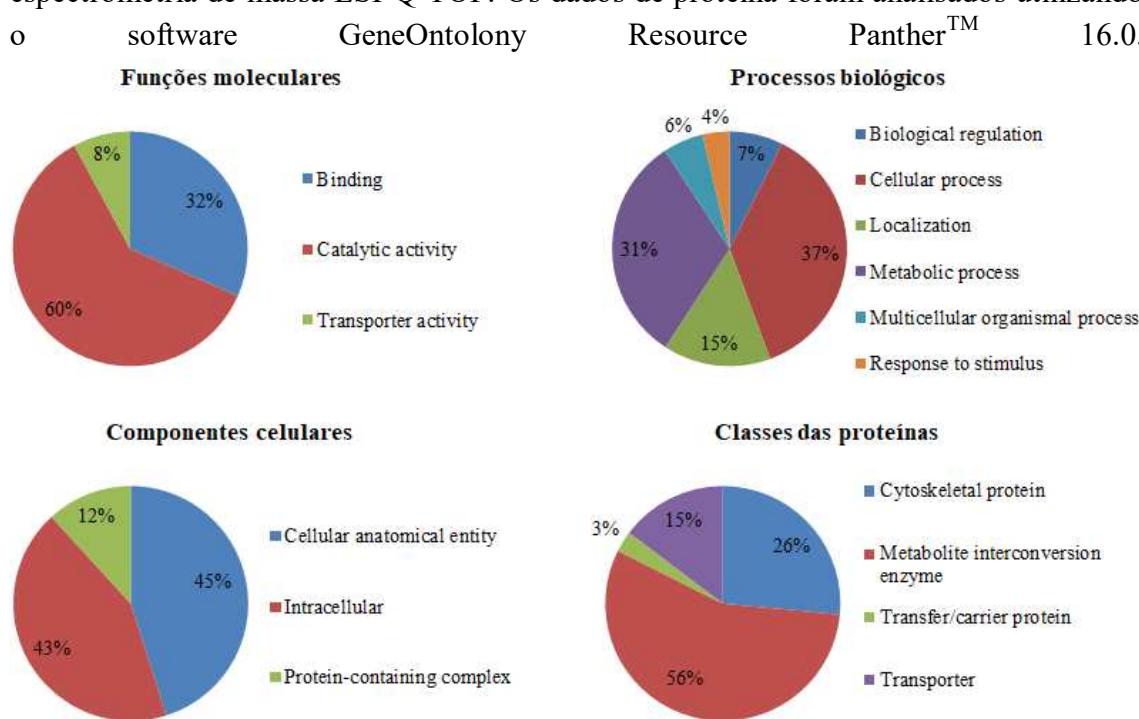
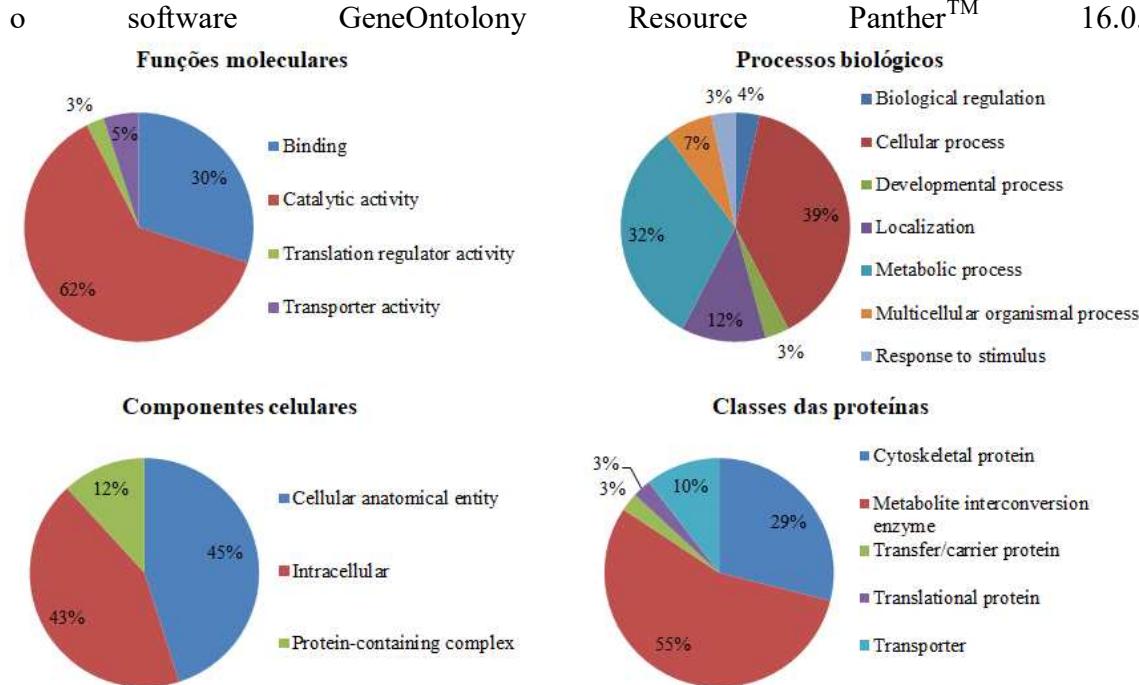


Figura 11 - Funções moleculares, processos biológicos, componentes celulares e classes de proteínas do músculo *L. dorsi* de ovinos da raça Santa Inês identificadas por espectrometria de massa ESI-Q-TOF. Os dados de proteína foram analisados utilizando o software GeneOntology Resource Panther™ 16.0.



As principais funções moleculares associadas às proteínas do músculo *L. dorsi* dos ovinos da raça Morada Nova incluíram atividade catalítica (60%) e proteínas de ligação (32%). Para a raça Santa Inês, as funções principais foram atividade catalítica (62%) e proteínas de ligação (30%). Estudos anteriores em caprinos (JIA *et al.*, 2021) e ovinos (RIBEIRO *et al.*, 2020) mostraram que as proteínas mais expressas na carne estão relacionadas à atividade catalítica e de ligação, resultados que corroboram com os encontrados neste estudo.

A análise funcional revelou que os processos biológicos das proteínas musculares estavam principalmente associados a processos celulares e metabólicos. Estudos anteriores sobre o proteoma dos tecidos musculares, como o *L. dorsi* em suínos (XUEDONG *et al.*, 2019), o *L. lumborum* em ovinos (RIBEIRO *et al.*, 2020) e o *L. lumborum* em caprinos (JIA *et al.*, 2021), apresentaram resultados semelhantes. Para a raça Morada Nova, os processos biológicos mais associados foram processos celulares (37%) e metabólicos (31%). Para a raça Santa Inês, a maioria das proteínas do *L. dorsi* também esteve relacionada a processos celulares (39%) e metabólicos (32%). Durante a conversão do músculo em carne, a rápida degradação dos estoques de fosfocreatina pela glicólise pode levar a uma rápida queda do pH, o que pode alterar a maciez da carne (D’ALESSANDRO; ZOLLA, 2013).

Os componentes celulares associados às proteínas do *L. dorsi* das raças Morada Nova e Santa Inês foram semelhantes, com predominância de anatomia celular (45%) e proteínas intracelulares (43%). Entre os genes relacionados à anatomia celular e proteínas intracelulares, destacam-se as proteínas PGK1 e ENO3, que estão correlacionadas com as vias glicolíticas. Ribeiro *et al.* (2020) caracterizaram o proteoma do *L. lumborum* em ovinos e observaram resultados semelhantes quanto às frações obtidas neste estudo.

Quanto às classes de proteínas, para Morada Nova, as frações encontradas foram: enzimas de interconversão de metabólitos (56%), proteínas de citoesqueleto (26%), proteínas transportadoras (15%) e proteínas de transferência/carreadora (3%). Para Santa Inês, as classes de proteínas foram: enzimas de interconversão de metabólitos (55%), proteínas de citoesqueleto (29%), proteínas transportadoras (10%), proteínas de transferência/carreadora (3%) e proteínas translacionais (3%).

As enzimas de interconversão de metabólitos são essenciais para o metabolismo energético, realizando transferências de compostos entre moléculas. A ENO3 pertence à classe das liases, que atuam removendo um grupo de uma molécula para formar uma ligação dupla ou adicionando um grupo a uma ligação dupla. A PGK1 faz parte do grupo das carboidratos quinases, que catalisam a fosforilação dos carboidratos. Outras enzimas comuns relacionadas à interconversão de metabólitos entre as raças estudadas incluem GAPDH, ALDOA, NDUFS3, PYGM, TPI1, PGAM, MDH1, PGM1, GOT2, PKM, CMK, LDHA e ALDH2.

As proteínas do citoesqueleto identificadas nas amostras de *L. dorsi* de ambas as raças incluem MYL1, MYL4, MYLPF, ACTC1, ACTA2, TPM2 e TPM1. As isoformas da miosina são essenciais para a formação e manutenção estrutural das fibras musculares e para a contração muscular. As proteínas TPM1 e TPM2 são membros da família das ATPases e se ligam aos filamentos de actina, estabilizando o citoesqueleto.

ATP5F1A e ATP5F1B são enzimas da classe transportadora e pertencem ao grupo das ATP sintases. Estas enzimas estão localizadas na membrana celular e realizam o transporte ativo de prótons através da energia liberada pela hidrólise de ATP.

Dentro da análise de ontologia gênica, observou-se semelhança entre os resultados obtidos para as raças estudadas, o que pode ser atribuído à herança genética compartilhada da raça Santa Inês em relação à raça Morada Nova.

5. CONCLUSÃO

O presente estudo descreve o proteoma geral do músculo *L. dorsi* de duas raças de ovinos, Morada Nova e Santa Inês. As principais proteínas do *L. dorsi* nesses animais estão associadas a estruturas do citoesqueleto e ao metabolismo celular. A alimentação dos ovinos com farelo de mamona dessolventizado não alterou o desempenho dos animais e, no caso dos Morada Nova, não induziu mudanças significativas no proteoma do *L. dorsi*, conforme o método utilizado neste estudo, baseado em eletroforese 1D e espectrometria de massas. Para os ovinos Santa Inês, as proteínas associadas à via glicolítica (ENO3 e PGK1) e à maciez da carne (ACTA1) mostraram expressões diferenciadas nos tratamentos com torta de mamona. Portanto, é provável que essas duas raças apresentem aspectos únicos em relação à digestão de certos componentes e ao metabolismo celular, afetando a expressão das proteínas musculares. Os resultados apresentados neste estudo são baseados em proteômica *bottom-up*, utilizando eletroforese unidimensional e espectrometria de massas. Embora essa abordagem forneça resultados válidos, existem limitações quanto à quantidade de proteínas identificadas e à capacidade de detectar diferenças estatísticas, como amplamente discutidas na literatura. Assim, estudos futuros são sugeridos para utilizar LC-MS/MS ou abordagens *top-down*, com a exploração de isoformas de proteínas e mapeamento de modificações pós-traducionais.

REFERÊNCIAS

- ALVES, Dorismar David et al. Maciez da carne bovina. **Ciência animal brasileira**, v. 6, n. 3, p. 135-149, 2005.
- ARAÚJO, Ricardo Alves de. Torta de mamona destoxicificada por soluções alcalinas em dietas de fêmeas caprinas leiteiras. 2019.
- AUDI, Jennifer et al. Ricin poisoning: a comprehensive review. **Jama**, v. 294, n. 18, p. 2342-2351, 2005.
- BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- CANHOS, DAL; DIAS, E. L. Tecnologia de carne bovina e produtos derivados. Campinas, Secretaria da Indústria, Comércio. **Ciência e Tecnologia**, p. 440, 1985.
- CARBON, Seth et al. AmiGO: online access to ontology and annotation data. **Bioinformatics**, v. 25, n. 2, p. 288-289, 2009.
- CARDOSO, Susana et al. Estimulação eletrica, tipo de desossa e taxas de resfriamento da carne bovina (MM. Longissimus Lumborum e Semitendinosus): efeitos em características físicas, fisico-químicas, sensoriais e bacteriológicas. 2005.
- CARVALHO, G. A. et al. Caracterização do mercado da carne ovina em Sobral, Estado do Ceará. **Informações Econômicas**, v. 46, n. 2, 2016.
- CUNHA, Maria das Graças Gomes et al. Desempenho e digestibilidade aparente em ovinos confinados alimentados com dietas contendo níveis crescentes de caroço de algodão integral. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 6, p. 1103-1111, 2008.
- D'ALESSANDRO, Angelo; ZOLLA, Lello. Meat science: From proteomics to integrated omics towards system biology. **Journal of proteomics**, v. 78, p. 558-577, 2013.
- DAVIES, A. S. The structure and function of carcass tissues in relation to meat production. **Meat production and processing New Zealand Society of animal production. Occasional publication**, n. 11, p. 43-60, 1989.
- DE ARAÚJO FILHO, J. A.; LEITE, E. Reis; DA SILVA, N. Lima. Contribution of woody species to the diet composition of goat and sheep in caatinga vegetation. **Embrapa Caprinos e Ovinos-Nota Técnica/Nota Científica (ALICE)**, 1998.
- DESAI, Monil A. et al. Proteome basis of pale, soft, and exudative-like (PSE-like) broiler breast (Pectoralis major) meat. **Poultry science**, v. 95, n. 11, p. 2696-2706, 2016.
- DRANSFIELD, Eric. Modelling post-mortem tenderisation—IV: Role of calpains and calpastatin in conditioning. **Meat science**, v. 34, n. 2, p. 217-234, 1993.

EMERENCIANO NETO, J. V. et al. Produção e estrutura de pastos de capim-massai adubado com dejetos da produção animal. **B. Indústr. Anim.**, p. 117-110, 2016. SOUZA, D. A. SAG da carne ovina brasileira: resultados 2008 e perspectivas. 2009.

FOURNIER, Marjorie L. et al. Multidimensional separations-based shotgun proteomics. **Chemical reviews**, v. 107, n. 8, p. 3654-3686, 2007.

FURTADO, R. N. et al. Valor nutritivo de dietas contendo torta de mamona submetida a métodos alternativos de destoxificação para ovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 1, p. 155-162, 2012.

GARDNER JR, H. K. et al. Detoxification and deallergenization of castor beans. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 37, n. 3, p. 142-148, 1960.

GARLAND, T.; BAILEY, E. M. Toxins of concern to animals and people. **Revue scientifique et technique-Office international des épizooties**, v. 25, n. 1, p. 341, 2006.

GETTY, R. Anatomia dos animais domésticos. **Guanabara Koogan**. vol. 2. 2000

GOLL, D. E. Role of proteinases and protein turnover in muscle growth and meat quality. In: **Proceedings-Annual Reciprocal Meat Conference of the American Meat Science Association (USA)**. 1992.

GOWDA, N. K. S. et al. Evaluation of castor (*Ricinus communis*) seed cake in the total mixed ration for sheep. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 2, p. 216-220, 2009.

GU, Xuedong et al. In-depth mapping of the proteome of Tibetan pig tenderloin (*longissimus dorsi*) using offline high-pH reversed-phase fractionation and LC-MS/MS. **Journal of food biochemistry**, v. 43, n. 11, p. e13015, 2019.

HAM, A. W.; CORMACK, D. H. **Histologia**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 23 1983. p. 508.

HOORN, R. K. J.; FLIKWEERT, J. P.; STAAL, Gerard EJ. Purification and properties of enolase of human erythrocytes. **International Journal of Biochemistry**, v. 5, n. 11-12, p. 845-846, 1974.

IBGE, Censo. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE. 2019.

JIA, Wei et al. Molecular mechanism of protein dynamic change for Hengshan goat meat during freezing storage based on high-throughput proteomics. **Food Research International**, v. 143, p. 110289, 2021.

JOSEPH, Poulson et al. Proteomics of muscle-specific beef color stability. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 12, p. 3196-3203, 2012.

KIM, Yuan H. et al. Mechanism for lactate-color stabilization in injection-enhanced beef. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 20, p. 7856-7862, 2006.

KOOHMARAEI, Mohammad. Muscle proteinases and meat aging. **Meat science**, v. 36, n. 1-2, p. 93-104, 1994.

KREUZER, Helen W.; WEST, Jason B.; EHLERINGER, James R. Forensic Applications of Light-Element Stable Isotope Ratios of Ricinus communis Seeds and Ricin Preparations. **Journal of forensic sciences**, v. 58, p. S43-S51, 2013.

LAWRIE, R. A.; LEDWARD, D. A. The eating quality of meat. **Meat science**, v. 5, p. 184-223, 1998.

LINDON, John C.; TRANTER, George E.; KOPPENAAL, David. **Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry**. Academic Press, 2016.

LIRA, Aianne Batista et al. Desempenho e características de carcaça de dois biótipos de ovinos da raça Santa Inês terminados a pasto suplementados com blocos multinutricionais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 18, n. 2, p. 313-326, 2017. Animal. v.18, n.2, p.313-326, 2017.

LORD, J. Michael; SPOONER, Robert A. Ricin trafficking in plant and mammalian cells. **Toxins**, v. 3, n. 7, p. 787-801, 2011.

LORD, J. Michael; SPOONER, Robert A. Ricin trafficking in plant and mammalian cells. **Toxins**, v. 3, n. 7, p. 787-801, 2011.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. São Paulo: Luchiari Filho, 2000.

MANCINI, R. A.; HUNT, MCy. Current research in meat color. **Meat science**, v. 71, n. 1, p. 100-121, 2005.

MARTINS, Jorge André Matias et al. Major heparin-binding proteins of the seminal plasma from Morada Nova rams. **Small Ruminant Research**, v. 113, n. 1, p. 115-127, 2013.

MELO, Walber Carvalho et al. Produção de etanol a partir de torta de mamona (*Ricinus communis* L.) e avaliação da letalidade da torta hidrolisada para camundongos. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1104-1106, 2008.

MILLER, R. K. Obtendo carne de qualidade consistente. In: **Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes**. 2001. p. 123-142.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). **Aprovado pelo decreto no. 30690 de 20.03. 52, alterado pelo decreto nº 1255**, 1980.

MOURA, Arlindo A. et al. Identification of proteins in the accessory sex gland fluid associated with fertility indexes of dairy bulls: a proteomic approach. **Journal of andrology**, v. 27, n. 2, p. 201-211, 2006.

NAIR, Mahesh N. et al. Proteome basis for intramuscular variation in color stability of beef semimembranosus. **Meat science**, v. 113, p. 9-16, 2016.

NUTRIENT requirement of sheep. Washington, D.C.: Academic Press, 2007. 99 p

OLIVEIRA, C. H. A. et al. Meat quality assessment from young goats fed for long periods with castor de-oiled cake. **Meat science**, v. 106, p. 16-24, 2015.

OLSNES, Sjur; KOZLOV, Jurij V. Ricin. **Toxicon**, v. 39, n. 11, p. 1723-1728, 2001.

POMPEU, RCFF et al. Farelo de mamona industrialmente destoxicificado na alimentação de ovinos. **Embrapa Caprinos e Ovinos-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2020.

RENERRE, Michel; DUMONT, Françoise; GATELLIER, Ph. Antioxidant enzyme activities in beef in relation to oxidation of lipid and myoglobin. **Meat Science**, v. 43, n. 2, p. 111-121, 1996.

RIBEIRO, D. M. et al. The effects of improving low dietary protein utilization on the proteome of lamb tissues. **Journal of proteomics**, v. 223, p. 103798, 2020.

ROCHA, Surza LG et al. Crotalid snake venom subproteomes unraveled by the antiophidic protein DM43. **Journal of proteome research**, v. 8, n. 5, p. 2351-2360, 2009.

RODRIGUES, Rodrigo Augusto. Programa nacional de produção e uso de biodiesel: uma referência para a análise da formulação, implementação e avaliação de políticas públicas. **Revista de Políticas Públicas e Gestão Governamental**, v. 6, n. 1, p. 1678-4057, 2007.

ROY, Chad J. et al. Thermostable ricin vaccine protects rhesus macaques against aerosolized ricin: Epitope-specific neutralizing antibodies correlate with protection. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 12, p. 3782-3787, 2015.

ROY, Chad J. et al. Thermostable ricin vaccine protects rhesus macaques against aerosolized ricin: Epitope-specific neutralizing antibodies correlate with protection. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 12, p. 3782-3787, 2015.

SÁNCHEZ, R. et al. Tribological characterization of green lubricating greases formulated with castor oil and different biogenic thickener agents: a comparative experimental study. **Industrial lubrication and tribology**, 2011.

SANTOS, P.A., LUDKE, M.C.M., LUDKE, J.V., SANTOS, M.J.B., MELO, A. G.S., OLIVEIRA, A.C., CAVALCANTI, A.S.A. 2013. Castor meal in feeding of non-ruminants. **Revista Eletrônica Nutritime**, 10, 2814-2827.

SEVERINO, L. S. O que sabemos sobre a torta da mamona. **Embrapa Algodão-Documentos (INFOTECA-E)**, 2005.

SEVERINO, L. S.; MILANI, M.; BELTRAO, NE de M. **Mamona: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006., 2006.

SGARBIERI, Valdemiro C. Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações e modificações. In: **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações e modificações**. 1996. p. 517-517.

SMITH, G. C. et al. Economic implications of improved color stability in beef. **Antioxidants in muscle foods: Nutritional strategies to improve quality**, p. 397-426, 2000.

TÁVORA, F. J. A. **F. A cultura da mamona**. Fortaleza: Epace, 1982. Multidimensional Separations-Based Shotgun Proteomics Marjorie L. Fournier,

TROUT, Graham. Biochemistry of lipid and myoglobin oxidation in post-mortem muscle and processed meat products-effects on rancidity. 2003.

TUNARU, Sorin et al. Castor oil induces laxation and uterus contraction via ricinoleic acid activating prostaglandin EP3 receptors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 23, p. 9179-9184, 2012.

VAN TILBURG, M. F. et al. Membrane-associated proteins of ejaculated sperm from Morada Nova rams, **Theriogenology**, v. 79, p. 1247-1261, 2013.

VIEIRA, M. M. M. et al. Ingestive behavior of sheep fed diets containing four levels of castor meal. **Revista Ceres**, v. 58, n. 4, p. 444-451, 2011.

WALSH, Matthew J.; DODD, Jennifer E.; HAUTBERGUE, Guillaume M. Ribosome-inactivating proteins: Potent poisons and molecular tools. **Virulence**, v. 4, n. 8, p. 774-784, 2013.

WATANABE, A.; DALY, C. C.; DEVINE, C. E. The effects of the ultimate pH of meat on tenderness changes during ageing. **Meat science**, v. 42, n. 1, p. 67-78, 1996. CULAU, Paulete de Oliveira Vargas et al. Influência do gene halotano sobre a qualidade da carne suína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 954-961, 2002.

WORBS, Sylvia et al. Ricinus communis intoxications in human and veterinary medicine—a summary of real cases. **Toxins**, v. 3, n. 10, p. 1332-1372, 2011.

ZEOLA, N. M. B. L. et al. Influência de diferentes níveis de concentrado sobre a qualidade da carne de cordeiros Morada Nova. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 97, n. 544, p. 175-180, 2002. Prates JAM (2000). Maturação da carne dos mamíferos: 1. Caracterização geral e modificações físicas. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, 95(533): 34-41.

ANEXO A - PROTEÍNAS DE *LONGISSIMUS DORSI* DE OVINOS DA RAÇA MORADA NOVA ALIMENTADOS COM FARELO DE SOJA, FARELO DE MAMONA DESSOLVENTIZADO E FARELO DE MAMONA DESSOLVENTIZADO PENEIRADO. AS PROTEÍNAS FORAM SEPARADAS POR ELETROFORESE UNIDIMENSIONAL (SDS-PAGE) E IDENTIFICADAS POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS (ESI-Q-TOF).

						1681 – 1692 1703 – 1715 1704 – 1715 1732 – 1752 1800 – 1809 1867 – 1877 1867 – 1877	ANLLQAEIEELR KIAEQELLDASER IAEQELLDASER KLETDTIQGEMEDIHQEAR LDEAEQLALK LQDLVDKLQAK LQDLVDKLQAK	67 65 82 89 60 66 62	3 777.9238 699.8687 699.8730 751.3854 687.3388 820.7435 565.2965 424.2369 635.8572	2 2 2 3 2 3 2
26	Myosin-2	MYH2	MYH2_BOV IN	1595	17	261 – 273 371 – 386 417 – 432 646 – 657 646 – 657 685 – 699 685 – 699 772 – 785 772 – 785 982 – 996 1003 – 1027 1120 – 1131 1182 – 1198 1201 – 1217 1285 – 1294 1378 – 1387 1426 – 1439 1491 – 1505 1509 – 1526 1509 – 1526 1509 – 1527 1509 – 1527 1509 – 1527 1537 – 1562 1543 – 1562 1543 – 1562 1543 – 1562 1682 – 1694 1683 – 1694 1683 – 1694 1705 – 1717 1706 – 1717 1734 – 1754 1802 – 1811 1869 – 1879 1869 – 1879	LASADIETYLLKE QREEQAEPDGTEVADK GQTVEQVTNAVAGALAK GSSFQTVSALFR GSSFQTVSALFR TPGAMEHELVHLHQLR TPGAMEHELVHLHQLR AGLLGLLEEMRDEK AGLLGLLEEMRDEK NLTEEMAGLDETIAK ALQEAHQQTLDLQAEEDKVNTLTK IEEEEEEIEAER DLEEATLQHEATAAALR HADSVaelgeqidnlqr LQTESGEFSR TKYETDAIQR LQNEVEDLMLDVER NAYEESLDQLETLKR NLQQEISDLTEQIAEGGK NLQQEISDLTEQIAEGGK NLQQEISDLTEQIAEGGK QVEQEKESEIQAALEEAASLEHEEGK SEIQAALEEAASLEHEEGK SEIQAALEEAASLEHEEGK SEIQAALEEAASLEHEEGK RANLLQAEIEELR ANLLQAEIEELR ANLLQAEIEELR KIAEQELLDASER IAEQELLDASER KLETDTIQGEMEDIHQEAR LDEAEQLALK LQDLVDKLQAK LQDLVDKLQAK	77 53 89 76 75 108 102 68 82 78 92 56 46 81 59 75 89 78 102 51 87 107 60 88 74 89 50 75 67 65 82 89 60 66 62	733.3798 601.2727 793.4146 650.3261 650.3271 437.4739 582.9641 525.2750 795.4020 817.8883 946.7983 744.8467 613.6363 632.3036 577.2575 612.7946 851.9141 603.6277 986.9871 658.3287 710.3550 1065.038 1 971.1231 723.9887 724.0011 1085.502 3 777.9238 699.8687 699.8730 751.3854 687.3388 820.7435 565.2965 424.2369 635.8572	2 3 2 2 2 4 4 3 2 2 3 2 3 3 2 2 2 3 3 2 2 2 3 3 2 2 2 2 2
26	Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium	ATP2A1	AT2A1_BOV IN	63	2	437 – 451 972 – 984	VGEATETALTTLVEK ISLPVIGLDEILK	43 51	781.3931 705.4377	2 2

						1869 – 1879 1886 – 1900 1915 – 1924	LQDLVDKLQAK QAEEAEEQSNTNLSK ADIAESQVNK	66 66 45	706.3315 424.2332 635.8554 839.3765 537.7670	2 2 2
28	Alpha-actinin-2	ACTN2	ACTN2_BOVIN	576	22	141 – 154 155 – 163 203 – 221 272 – 281 289 – 298 367 – 377 428 – 438 563 – 572 573 – 584 593 – 608 616 – 631 616 – 631 712 – 721 734 – 745 760 – 767 821 – 836 837 – 852	FAIQDISVEETS A K EGLLLWCQR LNKDPPIGNINLAMEIAEK VLAVNQENER LASELLEWIR MVSDIAGAWQR DYESSTLTEVR ATLPEADGER QSILAIQNEVEK ISSSNPYSTVTVDEIR QLVPIRDQSLQEELAR QLVPIRDQSLQEELAR HTNYTMEHIR TINEVETQILTR ASFNFHDFR ETADTD TAEQVIASFR ILASDKPYILAE LRR	82 54 44 73 75 52 69 41 74 94 49 49 41 73 66 88 68	769.3847 587.7996 705.3603 586.2977 615.3455 625.3011 650.3050 529.7559 686.3735 884.4362 632.3237 632.6814 439.8677 708.8835 497.2247 877.4105 472.5174	2 2 3 2 2 2 2 2 2 2 3 3 3 2 2 2 4
28	Alpha-actinin-3	ACTN3	ACTN3_BOVIN	469	13	148 – 161 162 – 170 213 – 228 279 – 288 296 – 305 315 – 325 391 – 401 391 – 401 391 – 402 435 – 445 741 – 752 756 – 766 767 – 774	FAIQDISVEETS A K EGLLLWCQR DDPIGNLNTAF EVAEK VLAVNQENEK LASELLEWIR VGEPSMSAMQR GYEDWLLSEIR GYEDWLLSEIR GYEDWLLSEIRR DYETASLQEVR TINEVENQVLTR GLSQEQLNEFR ASFNFHDFR	82 54 60 53 75 60 70 50 49 79 93 87 66	769.3847 587.7996 866.9189 572.3005 615.3455 612.7700 690.8392 690.8412 512.9281 655.8111 708.3726 660.8290 497.2247	2 2 2 2 2 2 2 2 3 2 2 2 2
28	Glycogen phosphorylase	PYGM	PYGM_SHEEP	321	12	18 – 30 279 – 290 325 – 333 334 – 352 334 – 352 415 – 425 508 – 520 522 – 533 741 – 754	GLAGVENVTELKK VLYPNDNFFEGK TNFDAFPDK VAIQLNDTHPSLAPELMR VAIQLNDTHPSLAPELMR VAAAFPGDVDR IGEEYIADLDQLR LLSYV DDES FIR HIIDQLSSGFFSPK	85 52 44 42 82 56 50 71 91	453.2577 721.8445 527.7430 706.7135 712.0447 559.2808 767.8880 728.8646 788.4070	3 2 2 3 3 2 2 2 2
28	Myosin-1	MYH1	MYH1_BOVIN	304	5	261 – 273 387 – 400 417 – 432 683 – 697 683 – 697 1272 – 1280 1283 – 1292	LASADIETYLL EK AAYLQGLNSADLLK GQTVEQVYNAV GALAK TPGAMEHELV LHQ L R TPGAMEHELV LHQ L R LINDLTTQR LQTESGEFSR	71 50 66 82 75 49 46	733.3882 738.9002 824.4329 437.4750 582.9678 537.2991 577.2748	2 2 2 4 3 2 2

						1330 – 1340 1489 – 1503 1681 – 1692	SALAHALQSAR NAYEESLDQLETLKR ANLLQAEIEELR	46 47 72	562.8126 603.6344 699.8835	2 3 2
29	Myosin-1	MYH1	MYH1_BOV IN	544	9	74 – 84 171 – 185 215 – 237 215 – 237 215 – 237 261 – 273 373 – 386 387 – 400 417 – 432 600 – 614 643 – 655 683 – 697 683 – 697 784 – 790 1283 – 1292 1367 – 1375 1681 – 1692	EDQVFPMNPBK ENQSILITGESGAGK MQGTLEDQIISANPLLEAFGNAK MQGTLEDQIISANPLLEAFGNAK MQGTLEDQIISANPLLEAFGNAK LASADIETYLLEK EEQAEPDGTEVADK AAYLQGLNSADLLK GQTVEQVYNAVAGALAK NKDPLNETVVGLYQK KGSSFQTVSALFR TPGAMEHELVHQQLR TPGAMEHELVHQQLR LAQLITR LQTESGEFSR ANSEVAQWR ANLLQAEIEELR	58 81 44 76 38 74 61 76 86 42 79 43 58 45 62 60 74	659.3092 752.3856 820.7484 826.0777 826.0810 733.3831 759.3335 738.8984 824.4269 573.3040 714.3832 577.6356 582.9668 407.7618 577.2777 530.7662 699.8785	2 2 3 3 3 2 2 2 2 3 2 3 3 2 2 2 2
29	Myosin-2	MYH2	MYH2_HOR SE	532	9	74 – 84 171 – 185 213 – 235 213 – 235 213 – 235 259 – 271 371 – 384 385 – 398 415 – 430 598 – 612 642 – 654 682 – 696 682 – 696 783 – 789 1366 – 1374 1680 – 1691	EDQVFPMNPBK ENQSILITGESGAGK MQGTLEDQIISANPLLEAFGNAK MQGTLEDQIISANPLLEAFGNAK MQGTLEDQIISANPLLEAFGNAK LASADIETYLLEK EEQAEPDGTEVADK AAYLQGLNSADLLK GQTVEQVYNAVAGALAK NKDPLNETVVGLYQK KGSSFQTVSALFR TPGAMEHELVHQQLR TPGAMEHELVHQQLR LAQIITR ANSEVAQWR ANLLQAEIEELR	58 81 44 76 38 74 61 76 89 42 79 43 58 45 60 74	659.3092 752.3856 820.7484 826.0777 826.0810 733.3831 759.3335 738.8984 793.4246 573.3040 714.3832 577.6356 582.9668 407.7618 530.7662 699.8785	2 2 3 3 3 2 2 2 2 3 2 3 3 2 2 2
29	Alpha-actinin-2	ACTN2	ACTN2_BO VIN	135	3	289 – 298 428 – 438 734 – 745	LASELLEWIR DYESSTLTEVR TINEVETQILTR	76 73 58	615.3522 650.3073 708.8858	2 2 2
29	ATP-dependent 6-phosphofructokinase, muscle type	PFKM	PFKAM_BO VIN	129	6	39 – 46 184 – 200 603 – 614 656 – 672	VGIYTGAR IIEIVDAITTAQSHQR DLQVNVEHLVQK NVLGHMQQGGSPFPDR	55 63 54 45	418.7331 632.6728 711.3881 619.6270	2 3 2 3
29	Aconitate hydratase, mitochondrial	ACO2	ACON_BOV IN	121	5	234 – 245 412 – 424 430 – 437 565 – 577	LTGSLSGWTSRK SQFTITPGSEQIR DGYAQILR LQLLEPDFKWDGR	43 60 65 45	617.3308 732.3760 468.2516 539.6140	2 2 2 3

30	Myosin-2	MYH2	MYH2_HORSE	481	8	171 – 185 213 – 235 259 – 271 259 – 271 353 – 364 385 – 398 415 – 430 415 – 430 598 – 612 600 – 612 642 – 654 1179 – 1195 1680 – 1691 1912 – 1921	ENQSILITGESGAGK MQGTLEDQIISANPLLEAFGNK LASADIETYLLEK LASADIETYLLEK LTGAVMHYGNLK AAYLQGLNSADLLK GQTVEQVTNAVGALAK GQTVEQVTNAVGALAK NKDPLNETVVGLYQK DPLNETVVGLYQK KGSSFQTVSALFR DLEEATLQHEATAAALR ANLLQAEIEELR ADIAESQVNK	74 60 73 77 57 46 75 108 44 39 44 43 91 50	752.3798 826.0869 733.3854 733.3891 660.3411 738.9005 793.4247 793.4284 573.3032 738.3813 714.3848 613.6411 699.8815 537.7765	2 3 2 2 2 2 2 2 3 2 2 3 2 2
30	Myosin-1	MYH1	MYH1_BOVIN	380	8	171 – 185 215 – 237 261 – 273 261 – 273 355 – 366 387 – 400 417 – 432 600 – 614 602 – 614 643 – 655 1180 – 1196 1681 – 1692 1913 – 1922	ENQSILITGESGAGK MQGTLEDQIISANPLLEAFGNK LASADIETYLLEK LASADIETYLLEK LTGAVMHYGNLK AAYLQGLNSADLLK GQTVEQVYNAVAGALAK NKDPLNETVVGLYQK DPLNETVVGLYQK KGSSFQTVSALFR DLEEATLQHEATAAALR ANLLQAEIEELR ADIAESQVNK	74 60 73 77 57 46 61 44 39 44 43 91 50	752.3798 826.0869 733.3854 733.3891 660.3411 738.9005 824.4301 573.3032 738.3813 714.3848 613.6411 699.8815 537.7765	2 3 2 2 2 2 2 3 2 2 3 2 2
30	Alpha-actinin-2	ACTN2	ACTN2_BOVIN	106	4	428 – 438 734 – 745 734 – 745 837 – 851	DYESSTLTEVR TINEVETQILTR TINEVETQILTR ILASDKPYILAEELR	73 45 45 39	650.3101 708.8875 709.3864 577.6591	2 2 2 3
31	Albumin	ALB	ALBU_SHEEP	326	12	169 – 183 375 – 386 402 – 412 437 – 451 438 – 451 548 – 557 569 – 580 569 – 580	HPYFYAPELLYYANK EYEATLEDCCAK HLVDEPQNLIK KAPQVSTPTLVEISR APQVSTPTLVEISR KQTALVELLK TVMENFVAFVDK TVMENFVAFVDK	43 61 56 73 65 55 99 74	630.3121 744.8006 653.3530 542.6410 749.4118 571.8521 700.3509 708.3420	3 2 2 3 2 2 2 2
31	Myosin-2	MYH2	MYH2_BOVIN	267	4	25 – 35 74 – 84 171 – 185 261 – 273 285 – 296 371 – 386 373 – 386 417 – 432	IEAQNKPFDAK EDQVFPMNPBK ENQSILITGESGAGK LASADIETYLLEK SYHIFYQITSNR QREEQAEPDGTEVADK EEQAEPDGTEVADK GQTVEQVTNAVGALAK	42 52 66 74 42 53 47 97	420.8877 659.3095 752.3801 733.3875 510.2511 601.2726 759.3315 793.4221	3 2 2 2 3 3 2 2
31	Myosin-1	MYH1	MYH1_BOVIN	238	4	25 – 35 74 – 84 171 – 185	IEAQNKPFDAK EDQVFPMNPBK ENQSILITGESGAGK	42 52 66	420.8877 659.3095 752.3801	3 2 2

33	Myosin-1	MYH1	MYH1_BOV IN	124	2	261 – 273 387 – 400 417 – 432	LASADIETYLLEK AAYLQQLNSADLLK GQTVEQVYNAV GALAK	74 53 60	733.3885 738.9041 824.4322	2 2 2
33	Glycogen phosphorylase, muscle	PYGM	PYGM_BOV IN	93	2	279 – 290 279 – 290 353 – 359	VLYPNDNFFEGK VLYPNDNFFEGK ILVDQER	48 62 43	721.8502 721.8502 436.7477	2 2 2
34	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial	ATP5F 1A	ATPA_BOV IN	313	16	46 – 58 134 – 149 150 – 161 176 – 182 219 – 230 306 – 316 335 – 347 494 – 503	TGTAEVSSILEER TGAIVDVPVG EELLGR VVDALGNAIDGK APGIIPR TSIAIDTIINQK HALIYYDDL SK EAYPGDVFYLHSR GYLDKLEPSK	86 79 80 57 58 57 69 43	696.3511 812.9454 586.3164 362.2302 658.8714 644.3500 518.5819 575.3104	2 2 2 2 2 2 3 2
34	Desmin	DES	DESM_BOV IN	154	6	59 – 70 151 – 160 213 – 222	TSGGAGGLGAL R VAEIYEEELR ADVDAATLAR	93 79 56	508.7779 625.8137 501.7641	2 2 2
34	Aldehyde dehydrogenase , mitochondrial	ALDH 2	ALDH2_BOV IN	78	3	111 – 117 350 – 358	LADLIER VVGNPFDSR	43 75	415.2441 495.7541	2 2
34	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase	UGP2	UGPA_BOV IN	73	2	378 – 389	SFENSLGINVPR	73	666.8439	2
35	ATP synthase subunit beta, mitochondrial	ATP5F 1B	ATPB_BOV IN	288	14	125 – 133 125 – 143 144 – 155 265 – 279 311 – 324 311 – 324 407 – 422	VLDSGAPIR VLD SGAPIRIPVG PETLGR IMNVIGEPIDER VALVY GQMNEPPGAR.A FTQAGSEVSALLGR FTQAGSEVSALLGR IMDPNIVGSEHYDVAR	54 85 66 63 79 78 56	464.2623 649.7044 701.3589 809.4076 718.3791 718.3839 611.2922	2 3 2 2 2 2 3
35	Actin, alpha cardiac muscle 1	ACTC1	ACTC_BOV IN	175	22	21 – 30 31 – 41 53 – 63 53 – 64 199 – 208 241 – 256 318 – 328 362 – 374	AGFAGDDAPR AVFPSIVGRPR DSYVGDEAQSK DSYVGDEAQSKR GYSFVTTAER. SYELPDGQVITIGNER EITALAPSTMK QEYDEAGPSIVHR	67 51 41 43 46 51 53 50	488.7288 599.8448 599.7639 452.2116 565.7777 895.9454 589.3096 500.9048	2 2 2 3 2 2 2 3
36	Actin, alpha cardiac muscle 1	ACTC1	ACTC_BOV IN	878	37	21 – 30 21 – 30 31 – 41 53 – 63 53 – 64 53 – 64 87 – 97 87 – 97 87 – 97 98 – 115	AGFAGDDAPR AGFAGDDAPR AVFPSIVGRPR DSYVGDEAQSK DSYVGDEAQSKR DSYVGDEAQSKR IWHHTFYNELR IWHHTFYNELR IWHHTFYNELR VAPEEHPTLLTEAPLNPK	86 86 69 41 91 102 50 57 50 87	488.6899 489.2113 400.2331 599.7683 452.2113 677.8153 505.9172 758.3809 506.2452 978.5107	2 2 3 2 3 2 3 2 3 2

						150 – 179 150 – 179 150 – 179 150 – 179 199 – 208 241 – 256 241 – 256 318 – 328 318 – 328 362 – 374 362 – 374	TTGIVLDSDGDGVTHNPIYEGYALPHAI MR. TTGIVLDSDGDGVTHNPIYEGYALPHAI MR TTGIVLDSDGDGVTHNPIYEGYALPHAI MR TTGIVLDSDGDGVTHNPIYEGYALPHAI MR GYSFVTTAER SYELPDGQVITIGNER SYELPDGQVITIGNER EITALAPSTMK EITALAPSTMK QEYDEAGPSIVHR QEYDEAGPSIVHR	54 54 54 149 46 86 58 50 54 75 97	799.9022 803.9002 803.9026 1071.537 4 565.7347 895.9160 895.9432 581.3082 589.2684 500.8972 750.8599	4 4 4 3 2 2 2 2 2 3 2
36	Beta-enolase	ENO3	ENO _B IN BOV	349	19	33 – 50 133 – 162 133 – 162 133 – 162 133 – 162 133 – 162 133 – 162 133 – 162 163 – 179 163 – 179 229 – 239 413 – 420	AAVPSGASTGIYEALELR HIADLAGNPELILPVPAFNVINGGSHAGN K HIADLAGNPELILPVPAFNVINGGSHAGN K HIADLAGNPELILPVPAFNVINGGSHAGN K HIADLAGNPELILPVPAFNVINGGSHAGN K HIADLAGNPELILPVPAFNVINGGSHAGN K HIADLAGNPELILPVPAFNVINGGSHAGN K LAMQEFMILPVGASSFR LAMQEFMILPVGASSFR TAIQAAGYPDK IEEALGDK	100 36 52 62 36 37 52 62 81 45 64 41	902.9673 759.6499 1012.531 7 759.6540 759.8986 759.8986 1012.863 9 759.9041 964.9776 643.6570 567.7919 	2 4 3 4 4 4 3 4 2 3 2 2
36	Phosphoglycerate kinase 1	PGK1	PGK1 _B OVI N	163	14	76 – 86 157 – 171 200 – 216 280 – 297	YSLQPVAELK LGDVYVNDAFGTAHR ALESPPERPFLAILGGAK ITLPVDFVTADKFDENAK	46 67 67 73	623.8565 545.5974 884.9981 675.0129	2 3 2 3
36	Creatine kinase M-type	CKM	KCRM_RAB IT	119	8	87 – 96 157 – 170 308 – 314	DLFDPIIQDR LSVEALNSLTGEFK FEEILTR	67 79 43	616.3172 754.4040 454.2468	2 2 2
37	Creatine kinase M-type	CKM	KCRM_RAB IT	767	38	87 – 96 108 – 116 117 – 130 117 – 130 157 – 170 157 – 170 178 – 209 178 – 209 178 – 209	DLFDPIIQDR TDLNHENLK GGDDLDPHYVLSSR GGDDLDPHYVLSSR LSVEALNSLTGEFK LSVEALNSLTGEFK SMTEQEQQQLIDDHFLFDKPVSPLLASG MAR SMTEQEQQQLIDDHFLFDKPVSPLLASG	63 45 63 109 106 78 52 59 52	616.2803 542.2733 510.9003 765.8546 754.3724 754.4026 911.9529 915.9494 915.9504	2 2 3 2 2 2 4 4 4

					178 – 209 178 – 209 178 – 209 224 – 236 267 – 292 342 – 358 342 – 358 370 – 381	MAR SMTEQEQQQLIDDHFLFDKPVSPLLLASG MAR SMTEQEQQQLIDDHFLFDKPVSPLLLASG MAR SMTEQEQQQLIDDHFLFDKPVSPLLLASG MAR SMTEQEQQQLIDDHFLFDKPVSPLLLASG SFLVVVNEEDHLR AGHPFMWNEHLGYVLTCPSNLGTGLR LGSSEVEQVQLVVDGVK LGSSEVEQVQLVVDGVK GQSIDDMIPAQK	58 127 74 82 57 90 43 57	919.9428 1226.262 6 919.9492 822.4087 736.6038 893.4688 595.9875 659.8150	4 3 4 2 4 2 3 2	
37	Actin, alpha cardiac muscle 1	ACTC1	ACTC_BOV IN	147	12	53 – 64 53 – 64 87 – 97 199 – 208 241 – 256	DSYVGDEAQSKR DSYVGDEAQSKR IWHHTFYNELR GYSFVTTAER SYELPDGQVITIGNER	54 64 43 45 65	677.8175 452.2168 505.9284 565.7810 895.9444	2 3 3 2 2
37	Aspartate aminotransferase	GOT2	AATM_BOV IN	136	6	126 – 139 326 – 337	YTVQTISGTGALR IASTILTSPDLR	78 92	733.4014 643.8668	2 2
38	Fructose-bisphosphate aldolase	Aldoa	ALDOA_RA T	471	32	29 – 42 44 – 57 44 – 57 61 – 69 61 – 69 112 – 134 112 – 134 154 – 173 154 – 173 154 – 173 174 – 201 332 – 342	GILADESTGSIAK LQSIGTENTEEENRR LQSIGTENTEEENRR QLLLTADDR QLLLTADDR GVVPLAGTNGETTQGLDGLSER GVVPLAGTNGETTQGLDGLSER IGEHTPSSLAIMENANVLAR IGEHTPSSLAIMENANVLAR IGEHTPSSLAIMENANVLAR YASICQQNGIVPIVEPEILPDGDHDLKR ALANSLACQGK	65 54 61 69 72 80 80 78 76 82 58 43	666.8315 823.9018 549.6066 522.7815 522.7869 1136.579 5 1137.073 2 708.3682 708.3683 713.6943 794.9033 566.7861	2 2 3 2 2 2 2 3 3 3 4 2
38	Creatine kinase M-type	CKM	KCRM_BOV IN	447	19	87 – 96 157 – 170 157 – 170 224 – 236 320 – 341 321 – 341 321 – 341 342 – 358	DLFDPIIQDR LSVEALNSLTGEFK LSVEALNSLTGEFK SFLVVVNEEDHLR RGTGGVDTAAVGSVFDVSNADR GTGGVDTAAVGSVFDVSNADR GTGGVDTAAVGSVFDVSNADR LGSSEVEQVQLVVDGVK	68 88 107 48 92 106 77 69	616.3196 754.3964 754.4040 822.4110 717.6921 997.9750 997.9771 893.4823	2 2 2 2 3 2 2 2
38	Fructose-bisphosphate aldolase A	ALDOA	ALDOA_RA BIT	393	35	29 – 42 44 – 57 44 – 57 61 – 69 61 – 69 112 – 134	GILADESTGSIAK LQSIGTENTEEENRR LQSIGTENTEEENRR QLLLTADDR QLLLTADDR GVVPLAGTNGETTQGLDGLSER	65 54 61 69 72 80	666.8315 823.9018 549.6066 522.7815 522.7869 1136.579	2 2 3 2 2 2

						112 – 134 154 – 173 154 – 173 174 – 201 323 – 331 323 – 331 332 – 342	GGVPLAGTNGETTQGLDGLSER IGEHTPSALAIMENANVLAR IGEHTPSALAIMENANVLAR YASICQQNGIVPIVEPEILPDGDHDLKR AAQEEYVKR AAQEEYVKR ALANSLACQGK	80 43 39 58 52 64 43	5 1137.073 2 708.3682 708.3683 794.9033 365.1907 547.2848 566.7861	2 3 3 4 3 2 2
38	Tropomyosin beta chain	TPM2	TPM2_BOVI N	348	29	13 – 21 38 – 48 78 – 90 78 – 91 92 – 101 92 – 105 169 – 178 206 – 217 252 – 264	LDKENAIDR QLEEEQQALQK ATDAEADVASLNR ATDAEADVASLNR IQLVEELDR IQLVEELDRAQER LVILEGELER SLEAQADKYSTK TIDDLEDEVYAQK	55 47 88 50 70 118 47 69 87	358.5255 672.3394 666.8196 496.9222 622.3334 576.6313 585.8450 670.8352 769.8678	3 2 2 3 2 3 2 2 2
38	Tropomyosin alpha-1 chain	TPM1	TPM1_BOVI N	234	13	13 – 21 78 – 90 78 – 91 92 – 101 92 – 105	LDKENALDR ATDAEADVASLNR ATDAEADVASLNR IQLVEELDR IQLVEELDRAQER	55 88 50 70 118	358.5255 666.8196 496.9222 622.3334 576.6313	3 2 3 2 3
38	Glyceraldehyd e-3-phosphate dehydrogenase	GAPDH	G3P_BOVIN	100	8	199 – 213 233 – 246	GAAQNIIPASTGAAK VPTPNVSVDLTCR	47 88	685.3696 778.9102	2 2
39	Glyceraldehyd e-3-phosphate dehydrogenase	GAPDH	G3P_BOVIN	510	41	71 – 78 71 – 84 117 – 137 144 – 160 161 – 184 161 – 184 161 – 184 161 – 184 199 – 213 226 – 232 233 – 246 308 – 321 322 – 333 322 – 333	AITIFQER AITIFQERDPANIK VIISAPSADAPMFVMGVNHEK IVSNASCTTNCLAPLAK VIHDHFGIVEGLMTTVHAITATQK VIHDHFGIVEGLMTTVHAITATQK VIHDHFGIVEGLMTTVHAITATQK VIHDHFGIVEGLMTTVHAITATQK GAAQNIIPASTGAAK LTGMAFR VPTPNVSVDLTCR LISWYDNEFGYSNR VVDDLMVHMASKE VVDDLMVHMASKE	42 46 40 86 61 53 46 109 59 46 93 88 40 64	489.2581 539.2942 738.3711 910.4479 873.4584 659.3374 527.6718 878.7878 685.3497 406.2102 778.9003 882.3967 464.2236 695.8373	2 3 3 2 3 4 4 3 2 2 2 2 3 2
39	Tropomyosin alpha-1	TPM1	TPM1_BOVI N	466	30	13 – 21 13 – 21 13 – 21 36 – 48 38 – 48 78 – 90 78 – 91 92 – 101 92 – 105 113 – 125	LDKENALDR LDKENALDR LDKENALDR SKQLEDELVSLQK QLEDELVSLQK ATDAEADVASLNR ATDAEADVASLNR IQLVEELDR IQLVEELDRAQER LEEAEKAADESER	54 85 85 102 45 86 52 70 94 52	358.5256 537.2883 537.7819 758.9087 651.3435 666.8199 496.9171 622.3256 576.6315 492.9000	3 2 2 2 2 2 3 2 3 3

						169 – 178 252 – 264	LVIIESDLER SIDDLEDELYAQK	50 69	593.8344 769.8589	2 2
39	Tropomyosin beta chain	TPM2	TPM2_BOV N	330	17	13 – 21 13 – 21 13 – 21 78 – 90 78 – 91 92 – 101 92 – 105 113 – 125	LDKENAIDR LDKENAIDR LDKENAIDR ATDAEADVASLNR ATDAEADVASLNR IQLVEEELDR IQLVEEELDRAQER LEEAEKAADESER	54 85 85 86 52 70 94 52	358.5256 537.2883 537.7819 666.8199 496.9171 622.3256 576.6315 492.9000	3 2 2 2 3 2 3 3
39	Creatine kinase M-type	CKM	KCRM_BOV IN	164	12	87 – 96 157 – 170 308 – 314 342 – 358	DLFDPPIQDR LSVEALNSLTGEFK FEEILTR LGSSEVEQVQLVVDGVK	68 64 55 78	616.3220 754.4006 454.2484 893.4830	2 2 2 2
39	Malate dehydrogenase , cytoplasmic	MDH1	MDHC_BO VIN	85	6	221 – 230 299 – 310	GEFITTVCQR VVEGLPINDFSR	61 56	589.8082 673.3533	2 2
40	L-lactate dehydrogenase A chain	LDHA	LDHA_BOS MU	225	24	6 – 22 58 – 73 91 – 99 158 – 169 213 – 228 269 – 278	DQLIQNLLKEEHVPQNK LKgemMDLQHGSLFLR LVIITAGAR VIGSGCNLDSAR NLHPELGTADKEQWK RVHPISTMIK	48 84 48 88 51 42	682.6985 477.4907 457.2960 624.8005 627.6371 399.8908	3 4 2 2 3 4
40	Glyceraldehyd e-3-phosphate dehydrogenase (Fragment)	GAPDH	G3P_SHEEP	175	15	188 – 202 215 – 221 222 – 235 297 – 310	GAAQNIIPASTGAAK LTGMAFR VPTPNVSVDLTCR LISWYDNEFGYSNR	63 43 92 75	685.3724 406.2071 778.9067 882.4022	2 2 2 2
40	Fructose- bisphosphate aldolase A	ALDOA A	ALDOA_RA BIT	94	9	61 – 69 88 – 99 244 – 258	QLLLTADDR ADDGRPFPVIK YSHEEIAMATVTALR	54 54 51	522.7902 671.8572 569.9510	2 2 3
41	Actin, cytoplasmic 1	ACTB	ACTB_SHE EP	72	6	19 – 28 239 – 254	AGFAGDDAPR SYELPDGQVITIGNER	59 47	488.7278 895.9479	2 2
41	L-lactate dehydrogenase A chain	LDHA	LDHA_BOS MU	61	5	82 – 90 91 – 99	DYNVTANSR LVIITAGAR	50 45	520.2460 457.2961	2 2
42	Phosphoglycer ate mutase 2	PGAM 2	PGAM2_BO VIN	229	36	11 – 21 66 – 83 66 – 83 147 – 162 180 – 191 181 – 191 196 – 231	HGESTWNQEN.R.F TLWTILDGTDQMWLWVVR.T TLWTILDGTDQMWLWVVR.T AGELPTCESLKDIA.R.A RVLIAAHGNSLR.G VLIAAHGNLSR.G HLEGMSDQAIMELNLPGTGIPIVYELDQAL KPTKPMR	40 57 57 102 41 57 37	453.2022 1080.556 0 1080.558 8 587.6292 436.2598 575.8354 820.2153	3 2 2 3 3 2 5

42	Carbonic anhydrase 3	CA3	CAH3_BOV1	228	38	25 – 36 37 – 57 68 – 76 68 – 80 127 – 135 172 – 188 213 – 224 227 – 242	GENQSPIELNTK EISHDPSLKPWTASYDPGSAK VVFDPTYDRSMLR YNSYATALK EAPFNNFNPSCLFPACR EPITVSSDQIAK TLYSSAENEPPVPLVR	46 37 60 46 42 39 55 93	665.3283 572.2767 565.2529 544.9301 515.7600 1020.953 6 644.3333 886.4577	2 4 2 3 2 2 2 2
42	Triosephosphate isomerase	TPI1	TPIS_BOV1	187	31	60 – 69 70 – 85 101 – 113 161 – 175 161 – 175 176 – 188 195 – 206	IAVAAQNCYK VANGAFTGEISPAGMIK HVFGESDELIGQK VVLAYEPVWAIGTGK VVLAYEPVWAIGTGK TATPQQAQEVHEK SNVSDAVAQSAR	50 43 44 57 58 41 71	569.2933 804.8969 729.8661 801.9456 801.9479 489.5779 602.7971	2 2 2 2 2 3 2
42	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 3, mitochondrial	NDUFS3	NDUFS3_BOV1	84	9	112 – 124 221 – 233	SLADLTAVDIPTR VVAEPVELAQEFR	76 41	686.3825 743.8916	2 2
42	Actin, aortic smooth muscle	ACTA2	ACTA_BOV1	78	9	199 – 208 199 – 208 241 – 256 318 – 328	GYSFVTTAER GYSFVTTAER SYELPDGQVITIGNER EITALAPSTMK	41 41 54 43	565.2619 565.7672 895.9488 589.3118	2 2 2 2
43	Heat shock protein beta-1	HSPB1	HSPB1_BOV1	86	9	29 – 38 29 – 38 111 – 119	LFDQAFGLPR LFDQAFGLPR DGVVEITGK	45 62 44	29 – 38 29 – 38 111 – 119	2 2 2
44	Myosin light chain 1/3, skeletal muscle isoform	MYL1	MYL1_BOV1	290	43	9 – 32 9 – 35 9 – 35 79 – 90 79 – 91 105 – 122 136 – 151 136 – 151 152 – 160	KPAAAAAAPAPAPAPAPAPAPAPPK KPAAAAAAPAPAPAPAPAPAPAPPKEEK KPAAAAAAPAPAPAPAPAPAPAPPKEEK ALGTNPTNAEVK ALGTNPTNAEVKK KIEFEQFLPMLQAISNNK VFDKEGNNGTVMGAELR VFDKEGNNGTVMGAELR HVLATLGEK	79 92 66 44 69 44 41 41 41	700.0638 621.8417 828.7922 608.3157 671.8692 722.7113 580.2841 580.6120 484.2805	3 4 3 2 2 3 3 2 2
44	Myosin light chain 4	Myl4	MYL4_MOUSE	87	6	80 – 92	ALGQNPTNAEVLR	87	691.8738	2
44	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (Fragment)	GAPDH	G3P_SHEEP	62	4	188 – 202	GAAQNIIPASTGAAK	62	685.3722	2
45	Troponin C, skeletal muscle	TNNC2	TNNC2_RA	57	7	10 – 21	SYLSEEMIAEFK	57	731.8458	2

46	Myosin regulatory light chain 2, skeletal muscle isoform	MYLP F	MLRS_BOV IN	130	27	43 – 52 53 – 60 61 – 73 92 – 106	DGIIDKEDLR DTFAAMGR LNVKNEELDAMMK LKGADPEDVITGAFK	70 45 52 61	587.3131 442.7011 783.8786 780.9163	2 2 2 2
46	Actin, cytoplasmic 1	ACTB	ACTB_SHE EP	53	2	19 – 28	AGFAGDDAPR	53	488.7302	2
47	Myoglobin	MB	MYG_SHEE P	412	35	18 – 32 18 – 32 33 – 43 65 – 78 65 – 78 120 – 134 120 – 134 120 – 134	VEADVAGHGQEVLIR VEADVAGHGQEVLIR LFTGHPETLEK HGNTVLTALGGILK HGNTVLTALGGILK HPSDFGADAQQGAMSK HPSDFGADAQQGAMSK HPSDFGADAQQGAMSK	97 102 62 82 103 50 115 56	531.6173 796.9226 636.3370 697.4091 697.4117 512.2216 767.8299 512.2224	3 2 2 2 2 3 2 3

ANEXO B - PROTEÍNAS DE *LONGISSIMUS DORSI* DE OVINOS DA RAÇA SANTA INÊS ALIMENTADOS COM FARELO DE SOJA, FARELO DE MAMONA DESSOLVENTIZADO DE FARELO DE MAMONA DESSOLVENTIZADO PENEIRADO. AS PROTEÍNAS FORAM SEPARADAS POR ELETROFORESE UNIDIMENSIONAL (SDS-PAGE) E IDENTIFICADAS POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS (ESI-Q-TOF).

						1400 – 1413 1400 – 1413 1424 – 1437 1489 – 1503 1489 – 1503 1507 – 1524 1507 – 1525 1507 – 1525 1535 – 1560 1535 – 1560 1541 – 1560 1541 – 1560 1541 – 1563 1680 – 1692 1681 – 1692 1716 – 1730 1732 – 1752 1800 – 1809 1800 – 1809 1852 – 1862 1867 – 1877 1867 – 1877 1902 – 1912		LQDAEEHVEAVNAK LQDAEEHVEAVNAK LQNEVEDLMIDVER NAYEESLDQLETLKR NAYEESLDQLETLKR NLQQEISDLTEQIAEGGK NLQQEISDLTEQIAEGGKR NLQQEISDLTEQIAEGGKR QVEQEKEIQAALLEEAEASLEHEEGK QVEQEKEIQAALLEEAEASLEHEEGK SEIQAALLEEAEASLEHEEGK SEIQAALLEEAEASLEHEEGK SEIQAALLEEAEASLEHEEGKILR RANLLQAEIEELR ANLLQAEIEELR VQLLHTQNTSLINTK KLETDTIQGEMEDIQEAR LDEAEQLALK LDEAEQLALK ELTYQTEEDRK LQDLVDKLQAK LQDLVDKLQAK LQHELEEEAER	60 116 102 90 101 102 95 105 37 51 88 82 45 44 75 39 99 48 48 77 57 65 73	531.2535 612.7979 518.2474 776.8765 859.9097 603.6245 904.9452 986.9739 710.3533 1065.037 0 728.5922 971.1248 723.9961 1085.499 4 638.8203 777.9264 699.8699 570.6437 820.7436 565.2964 565.7748 706.3318 424.2396 635.8613 691.8234	3 2 2 3 2 2 3 2 4 3 3 2 2 3 2 2 3 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2
1	Myosin-2	MYH2	MYH2_BOV IN	2059	22	74 – 84 171 – 185 261 – 273 371 – 386 646 – 657 646 – 657 685 – 699 685 – 699 729 – 744 729 – 744 772 – 785 772 – 785 772 – 785 958 – 968 982 – 996 982 – 996 1003 – 1027 1030 – 1047 1032 – 1048 1120 – 1131 1182 – 1198 1182 – 1198 1201 – 1217 1201 – 1217		EDQVFPMNPPK ENQSILITGESGAGK LASADIETYLLKE QREEQAEPDGTEVADK GSSFQTVSALFR GSSFQTVSALFR TPGAMEHELVLHQLR TPGAMEHELVLHQLR VLNASAPEGQYIDSK VLNASAPEGQYIDSK AGLLGLLEEMRDEK AGLLGLLEEMRDEK AGLLGLLEEMRDEK DIDDLLETLAK NLTEEMAGLDETIAK NLTEEMAGLDETIAK ALQEAHQTLDDILQAEEDKVNTLTK TKLEQQVDDLEGSLEQEKK LEQQVDDLEGSLEQEKK IEELEEEIEAER DLEEAATLQHEATAAALR DLEEAATLQHEATAAALR HADSVAELEGQIDNLQR HADSVAELEGQIDNLQR	45 62 74 46 70 75 106 115 43 42 71 64 86 61 84 73 112 40 39 56 73 136 140 95	659.3054 752.3756 733.3733 601.2739 650.3224 650.3297 437.4704 582.9651 852.4437 852.9355 525.2738 787.4114 795.4052 623.3173 817.8926 825.8923 946.8027 697.0081 663.3289 744.8473 613.6318 919.9533 947.9534 632.3070	2 2 2 3 2 2 4 3 2 2 3 2 2 2 2 2 2 3 3 2 2 2 2 2 2 2 2 2

					1285 – 1294	LQTESGEFSR	59	577.2528	2
					1311 – 1322	QAFTQQIEELKR	43	497.5881	3
					1378 – 1387	TKYETDAIQR	81	612.7979	2
					1426 – 1439	LQNEVEDLMLDVER	102	859.9097	2
					1491 – 1505	NAYEESLDQLETLKR	90	603.6245	3
					1491 – 1505	NAYEESLDQLETLKR	101	904.9452	2
					1509 – 1526	NLQQEISDLTEQIAEGGK	102	986.9739	2
					1509 – 1527	NLQQEISDLTEQIAEGGKR	95	710.3533	3
					1509 – 1527	NLQQEISDLTEQIAEGGKR	105	1065.037	2
					1537 – 1562	QVEQEKSIEQAALEEAASLEHEEGK	37	0	4
					1537 – 1562	QVEQEKSIEQAALEEAASLEHEEGK	51	728.5922	3
					1543 – 1562	SEIQAALEEEAEASLEHEEGK	88	971.1248	3
					1543 – 1562	SEIQAALEEEAEASLEHEEGK	82	723.9961	2
					1543 – 1565	SEIQAALEEEAEASLEHEEGKILR	45	1085.499	4
					1682 – 1694	RANLLQAEIEELR	44	4	2
					1683 – 1694	ANLLQAEIEELR	75	638.8203	2
					1718 – 1732	VQLLHTQNTSLINTK	39	777.9264	3
					1734 – 1754	KLETDITQIQGEMEDILQEAR	99	699.8699	3
					1802 – 1811	LDEAEQLALK	48	570.6437	2
					1802 – 1811	LDEAEQLALK	48	820.7436	2
					1854 – 1864	ELTYQTEEDRK	77	565.2964	2
					1869 – 1879	LQDLVDKLQAK	57	565.7748	3
					1869 – 1879	LQDLVDKLQAK	65	706.3318	2
					1904 – 1914	LQHELEEAEER	73	424.2396	2
								635.8613	
								691.8234	

						1732 – 1752 1733 – 1752 1761 – 1774 1775 – 1784 1800 – 1809 1800 – 1809 1800 – 1812 1800 – 1812 1852 – 1862 1867 – 1877 1867 – 1877 1913 – 1922 1913 – 1922	KLETDITQIQGEMEDIQEAR LETDTIQIQGEMEDIQEAR AITDAAMMAEELKK EQDTSAHLER LDEAEQLALK LDEAEQLALK LDEAEQLALKGGK ELTYQTEEDRK LQDLVDKLQAK LQDLVDKLQAK ADIAESQVNK ADIAESQVNK	61 60 82 68 56 56 42 77 65 54 50 50	4 570.6482 820.7424 826.0727 1166.566 9 777.3762 395.8570 565.2998 565.7793 457.9184 706.3286 424.2347 635.8549 537.7488 538.2632	3 2 2 3 2 2 3 2 3 2 2
2	Myosin-2	MYH2	MYH2_BOV IN	2391	22	261 – 273 646 – 657 685 – 699 772 – 782 772 – 782 772 – 785	LASADIETYLLKEK GSSFQTVSALFR TPGAMEHELVLHQLR AGLLGLLEEMR AGLLGLLEEMR AGLLGLLEEMRDEK	70 61 101 61 48 49	733.3889 650.3321 582.9674 601.3336 609.3250 525.2754	2 2 3 2 2 3

					772 – 785	AGLLGLLEEMRDEK	93	787.4138	2
					772 – 785	AGLLGLLEEMRDEK	89	795.4065	2
					958 – 968	DIDDLELTLAK	57	623.3315	2
					982 – 996	NLTEEMAGLDETIAK	86	817.8949	2
					982 – 996	NLTEEMAGLDETIAK	78	825.8898	2
					1003 – 1027	ALQEAHQQLDDLQAEEDKVNTLTK	121	946.8040	3
					1030 – 1047	TKLEQQVDDLEGSLQEKK	76	697.0090	3
					1032 – 1048	LEQQVDDLEGSLQEKK	62	663.3271	3
					1066 – 1078	LAQESIMDIENEK	70	768.3637	2
					1147 – 1170	ELEEISERLEEAGGATSAQIEMNK	36	884.0824	3
					1155 – 1170	LEEAGGATSAQIEMNK	67	832.8895	2
					1182 – 1198	DLEEATLQHEATAAALR	118	919.9562	2
					1182 – 1198	DLEEATLQHEATAAALR	86	613.6412	3
					1182 – 1199	DLEEATLQHEATAAALRK	92	656.3400	3
					1201 – 1217	HADSVVAELGEQIDNLQR	96	632.3069	3
					1285 – 1294	LQTESGEFSR	60	577.2624	2
					1311 – 1322	QAFTQQIEELKR	83	745.8945	2
					1332 – 1342	NALAHGLQSAR	50	569.2915	2
					1332 – 1342	NALAHGLQSAR	53	569.8117	2
					1378 – 1387	TKYETDAIQR	55	612.8053	2
					1426 – 1439	LQNEVEDLMLDVER	102	851.9154	2
					1426 – 1439	LQNEVEDLMLDVER	92	859.9066	2
					1426 – 1439	LQNEVEDLMLDVER	84	859.9084	2
					1491 – 1505	NAYEESLDQLETTLKR	77	603.6257	3
					1491 – 1505	NAYEESLDQLETTLKR	114	904.9461	2
					1509 – 1526	NLQQEISDLTEQIAEGGK	98	986.9772	2
					1509 – 1526	NLQQEISDLTEQIAEGGK	52	658.3266	2
					1509 – 1527	NLQQEISDLTEQIAEGGKR	100	710.3470	3
					1509 – 1527	NLQQEISDLTEQIAEGGKR	86	1065.029	2
					1537 – 1562	QVEQEKEIQALEEAEASLEHEEGK	50	9	4
					1537 – 1562	QVEQEKEIQALEEAEASLEHEEGK	73	728.5958	3
					1543 – 1562	SEIQALEEAEASLEHEEGK	88	971.1261	3
					1543 – 1562	SEIQALEEAEASLEHEEGK	79	724.0045	2
					1543 – 1565	SEIQALEEAEASLEHEEGKILR	73	1085.508	4
					1682 – 1694	RANLLQAEIEELR	67	3	2
					1683 – 1694	ANLLQAEIEELR	73	638.8234	2
					1683 – 1702	ANLLQAEIEELRATLQTER	69	777.9260	2
					1718 – 1732	VQLLHTQNTSLINTK	47	699.8538	3
					1734 – 1754	KLETDTIQGEMEDILQEAR	93	1164.102	3
					1734 – 1754	KLETDTIQGEMEDILQEAR	61	4	3
					1735 – 1754	LETDTIQGEMEDILQEAR	60	570.6482	2
					1763 – 1776	AITDAAMMAEELKK	82	820.7424	2
					1777 – 1786	EQDTSAHLER	68	826.0727	3
					1802 – 1811	LDEAEQLALK	56	1166.566	2
					1802 – 1811	LDEAEQLALK	56	9	2
					1802 – 1814	LDEAEQLALKGGK	42	777.3762	3
					1854 – 1864	ELTYQTEEDRK	77	395.8570	2
					1869 – 1879	LQDLVDKLQAK	65	565.2998	3
					1869 – 1879	LQDLVDKLQAK	54	565.7793	2
					1915 – 1924	ADIAAESQVNK	50	457.9184	2
					1915 – 1924	ADIAAESQVNK	50	706.3286	2

								424.2347 635.8549 537.7488 538.2632		
3	Alpha-actinin-2	ACTN2	ACTN2_BOVIN	807	24	55 – 67 141 – 154 272 – 281 289 – 298 367 – 377 384 – 394 428 – 438 458 – 482 563 – 572 573 – 584 593 – 608 616 – 631 616 – 631 680 – 689 734 – 745 760 – 767 821 – 836 837 – 851	AGTQIENIEEDFR FAIQDISVEETSAK VLAVNQENER LASELLEWIR MVSIDIAGAWQR GYEEWLLNEIR DYESSTLTEVR VEQIAAIAQELNELDYHDAVNNDR ATLPEADGER QSILAIQNEVEK ISSSNPYSTVTVDEIR QLVPIRDQSQLQEELAR QLVPIRDQSQLQEELAR QYEHNIIINYK TINEVETQILTR ASFNFDR ETADTDAAEQVIASFR ILASDKPYILAEELR	58 81 71 79 42 66 73 134 50 74 107 52 52 51 92 71 116 87	761.3554 769.3811 586.3018 615.3359 617.3029 711.3500 650.3007 947.1293 529.7553 686.3691 884.4315 632.3177 632.6763 661.3294 708.8801 497.2282 877.4065 577.6576	2 2 2 2 2 2 2 3 2 2 2 3 3 2 2 2 2 2 3
3	Glycogen phosphorylase	PYGM	PYGM_SHEEP	399	16	18 – 30 171 – 185 271 – 278 279 – 290 325 – 333 334 – 352 415 – 425 508 – 520 522 – 533 726 – 735 741 – 754	GLAGVENVTTELKK ISGGWQMEEADDWLR NLAENISR VLYPNNDNFFEGK TNFDAFPDK VAIQLNDTHPSLAPELMR VAAAEPGDVDR IGEEYIADLDQLR LLSYVDDES FIR GYNAQEYYDR HIIDQLSSGFFSPK	68 63 46 49 51 83 58 76 80 71 95	453.2560 896.8982 458.7417 721.8451 527.7409 706.7117 559.2795 767.8847 728.8639 639.7741 788.4058	3 2 2 2 2 3 2 2 2 2
4	Myosin-1	MYH1	MYH1_BOVIN	584	11	148 – 170 171 – 185 215 – 237 261 – 273 355 – 366 373 – 386 387 – 400 387 – 400 417 – 432 600 – 614 643 – 655 644 – 655 683 – 697 784 – 790 283 – 1292 489 – 1503 681 – 1692	RQEAPPHIFSISDNAYQFMLTDR ENQSILITGESGAGK MQGTLEDQIISANPLLEAFGNAK LASADIETYLLER LTGAVMHYGNLK EEQAEPDGTEVADK AAYLQGLNSADLLK AAYLQGLNSADLLK GQTVEQVYNAV GALAK NKDPLNETVVGLYQK KGSSFQTVSALFR GSSFQTVSALFR TPGAMEHELVHQLR LAQLITR LQTESGEFSR NAYEESLDQLET LKR ANLLQAEIEELR	77 63 45 74 43 58 48 76 82 47 64 91 84 58 50 70 66	688.8312 752.3820 1238.615 5 733.3895 660.3488 759.3328 738.8981 738.9008 824.4272 573.3044 714.3849 650.3301 582.9645 407.7609 577.2792 603.6365 699.8842	4 2 2 2 2 2 2 2 2 3 2 3 2 2 2 2 3

5	Myosin-1	MYH1	MYH1_BOV IN	951	10	148 – 170 149 – 170 171 – 185 192 – 205 192 – 205 215 – 237 215 – 237 215 – 237 215 – 237 215 – 237 261 – 273 261 – 273 355 – 366 355 – 366 371 – 386 373 – 386 417 – 432 600 – 614 1541 – 1560 1681 – 1692 1867 – 1877 1913 – 1922	RQEAPPHFSISDNAYQFMLTDR QEAPPHFSISDNAYQFMLTDR ENQSILITGESGAGK VIQYFATIAVTGEK VIQYFATIAVTGEK MQGTLEDQIISANPPLAEGNAK MQGTLEDQIISANPPLAEGNAK MQGTLEDQIISANPPLAEGNAK MQGTLEDQIISANPPLAEGNAK LASADIETYLLEK LASADIETYLLEK LTGAVMHYGNLK LTGAVMHYGNLK QREEQAEPDGTEVADK EEQAEPDGTEVADK GQTVEQVYNAV GALAK NKDPLNETVGLYQK SEIQAALEEAESLHEEGK ANLLQAEIEELR LQDLVDKLQAK ADIAESQVNK	55 45 82 51 51 59 71 82 82 50 81 57 64 49 62 82 75 68 73 51 49	684.8302 866.0727 752.3803 770.4224 770.9085 820.7490 1238.613 0 826.0888 826.4119 733.3782 733.3782 652.3455 660.3411 601.2760 759.3325 824.4306 859.4534 724.0068 699.8807 635.8685 537.7764	4 3 2 2 2 3 2 3 3 2 2 2 2 3 2 2 2 2 2 2 2 2 2
5	Albumin	ALB	ALBU_SHE EP	187	6	402 – 412 437 – 451 569 – 580	HLVDEPQNLIK KAPQVSTPTLVEISR TVMENFVAFVDK	55 58 74	653.3561 542.6415 708.3466	2 3 2
6	Myosin-1	MYH1	MYH1_BOV IN	624	6	74 – 84 171 – 185 215 – 237 215 – 237 215 – 237 261 – 273 261 – 273 387 – 400 417 – 432 644 – 655 507 – 1525 681 – 1692	EDQVFPMNPPK ENQSILITGESGAGK MQGTLEDQIISANPPLAEGNAK MQGTLEDQIISANPPLAEGNAK MQGTLEDQIISANPPLAEGNAK LASADIETYLLEK LASADIETYLLEK AAYLQGLNSADLLK GQTVEQVYNAV GALAK GSSFQTVSALFR NLQQEISDLTEQIAEGGKR ANLLQAEIEELR	49 71 57 79 53 76 73 79 69 74 53 90	659.3076 752.3884 820.7455 826.0797 826.0803 733.3822 733.3829 738.8981 824.4296 650.3342 710.3635 699.8813	2 2 3 3 3 2 2 2 2 2 3 2
6	Heat shock 70 kDa protein 1B	HSPA1 B	HS71B_BOS MU	457	12	26 – 36 37 – 49 57 – 71 172 – 187 525 – 533 610 – 628	VEIANDQGNR TTPSYVAFTDTER NQVALNPQNTVFDAK IINEPTAAAIAYGLDR YKADEVQR LYQGAGGPGAGGGFAQAPK	67 85 65 93 54 96	614.8240 744.3515 829.9280 844.4440 569.2833 852.4270	2 2 2 2 2 2
6	Albumin	ALB	ALBU_SHE EP	363	10	402 – 412 421 – 433 421 – 433 437 – 451 437 – 451 548 – 557 569 – 580	HLVDEPQNLIK HGEYGFQNALIVR HGEYGFQNALIVR KAPQVSTPTLVEISR KAPQVSTPTLVEISR KQTALVELLK TVMENFVAFVDK	53 72 57 103 70 59 79	653.3536 752.3867 501.9283 813.4599 542.6436 571.8544 708.3456	2 2 3 2 3 2 2

7	Phosphogluco mutase-1	PGM1	PGM1_BOV IN	929	33	11 – 23 11 – 23 28 – 52 131 – 146 222 – 234 278 – 293 278 – 299 334 – 343 334 – 343 350 – 360 361 – 370 428 – 440 444 – 452 471 – 486 492 – 499 504 – 515 516 – 527	AYQDQKPGTSGLR AYQDQKPGTSGLR VFQSSSYAENFIQSIIISTVEPAQR FNISNGGPAAPEAITDK IDAMHGVVGPYVK TGEHDFGAAFDDGDGDR TGEHDFGAAFDDGDRNMILGK SMPTSGALDR SMPTSGALDR IALYETPTGWK FFGNLMDASK YDYEEVEAEGANK ELEALISDR IDNFEYSDPVDGDSISR LLFADGSR LSGTGSAGATIR LYIDSYEKDLAK	58 72 66 50 58 49 50 72 66 70 49 80 64 66 60 79 49	474.2395 710.8593 939.1257 816.3908 701.3627 556.2261 780.3451 525.7445 525.7498 639.8366 573.2637 758.8198 523.2775 907.4064 439.7364 545.7958 486.5861	3 2 3 2 2 3 3 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2
7	Glycogen phosphorylase	PYGM	PYGM_BOV IN	174	4	279 – 290 415 – 425 522 – 533	VLYPNNDNFEGK VAAAFPGDVDR LLSYVVDDES FIR	53 54 67	721.8450 559.2871 728.8604	2 2 2
8	Pyruvate kinase PKM	PKM	KPYM_RAB IT	888	29	44 – 56 126 – 136 142 – 151 207 – 224 208 – 224 231 – 246 231 – 246 231 – 246 279 – 294 384 – 392 393 – 400 448 – 455 448 – 455 476 – 489 490 – 498 490 – 498 505 – 526	NTGIICTIGPASR GSGTAEVELKK ITLDNAYMEK KGVNLPGAAVDLP AVSEK GVNLPGAAVDLP AVSEK FGVEQDVDMVFASFIR FGVEQDVDMVFASFIR FGVEQDVDMVFASFIR RFDEILEASDGIMVAR EAEAAMFHR KLFEELAR APIIAVTR APIIAVTR DPVQEAWAEDVDLR VNLAMNVGK VNLAMNVGK KGDVVIVLTGWRPGSGFTNTMR	66 82 57 67 70 73 89 61 85 51 52 55 55 87 55 65	680.3538 559.8085 607.2913 882.9919 818.9409 938.4437 938.4481 625.9683 613.3080 531.2438 503.2856 420.7487 421.2491 821.8860 473.2627 481.2548 602.5704	2 2 2 2 2 2 2 3 2 2 2 2 2 2 2 4
9	Desmin	DES	DESM_BOV IN	655	24	17 – 37 59 – 70 110 – 118 151 – 160 165 – 173 213 – 222 300 – 309 356 – 369 408 – 415 416 – 429	TFGGAPSFPGLSPLSSPVFPR TSGGAGGLGALR VELQELNDR VAEIYEEELR QVEVLTNQR ADVDAATLAR VSDLTQAANK FASEASGYQDNIAR LLEGEESR INLPIQTFSALNFR	60 76 49 87 54 57 62 91 53 73	1059.546 1 508.7742 558.2880 625.8126 543.7982 501.7609 523.7779 764.8513 466.7389 817.4481	2 2 2 2 2 2 2 2 2 2

9	ATP synthase subunit alpha	ATP5F1A	ATPA_BOVIN	555	17	46 – 58 59 – 73 134 – 149 150 – 161 176 – 182 219 – 230 306 – 316 335 – 347	TGTAEVSSILEER ILGADTSVDLEETGR TGAIVDVPVGEELLGR VVDALGNAIDGK APGIIPR TSIAIDTIINQK HALIYYDDLDSK EAYPGDVFYLHSR	87 71 70 86 57 75 63 48	696.3495 788.3998 812.9417 586.3139 362.2239 658.8710 644.3486 777.3705	2 2 2 2 2 2 2 2
9	Aldehyde dehydrogenase	ALDH2	ALDH2_BOVIN	220	8	111 – 117 163 – 175 199 – 212 350 – 358	LADLIER TIPIDGDYFSYTR LGPALATGNVVVMK VVGNPFDSDR	60 53 54 53	415.2426 774.3679 693.3901 495.7518	2 2 2 2
10	ATP synthase subunit beta	ATP5F1B	ATPB_BOVIN	446	29	110 – 121 125 – 133 125 – 143 144 – 155 189 – 198 265 – 279 311 – 324 311 – 324 325 – 345 388 – 406 407 – 422 463 – 480 463 – 480	TIAMDGTGELVR VLDSGAPIR VLDSGAPIRIPVGVPETLGR IMNVIGEPIDER VVDLLAPYAK VALVYQGMNEPPGAR FTQAGSEVSALLGR FTQAGSEVSALLGR IPSAVGYQPTLATDMGTMQER AIAELGIYPAVDPLDSTSR IMDPNIVGSEHYDVAR FLSQPFQVAEVFTGHLGK FLSQPFQVAEVFTGHLGK	73 65 101 61 48 63 82 70 43 41 61 39 55	639.8228 464.2625 649.7043 701.3565 544.8198 809.4028 718.3755 718.3769 766.6922 994.5214 611.2898 669.0182 669.0186	2 2 3 2 2 2 2 2 3 2 3 3 3
10	Actin, alpha cardiac muscle 1	ACTC1	ACTC_BOVIN	210	19	21 – 30 53 – 64 199 – 208 241 – 256 241 – 256 318 – 328 362 – 374	AGFAGDDAPR DSYVGDEAQSKR GYSFVTTAER SYELPDGQVITIGNER SYELPDGQVITIGNER EITALAPSTMK QEYDEAGPSIVHR	56 78 54 40 73 41 62	488.7260 452.2101 565.7754 895.9434 895.9450 581.3159 500.9043	2 3 2 2 2 2 3
10	Elongation factor 1-alpha 2	EEF1A2	EF1A2_BOVIN	118	7	256 – 266 256 – 266 267 – 290	IGGIGTVPVGR IGGIGTVPVGR VETGILRPGMVVTAPVNITTEVK	52 67 60	513.3076 513.3082 863.1401	2 2 3
10	Beta-enolase	ENO3	ENO_BOVIN	138	8	33 – 50 229 – 239 413 – 420	AAVPSGASTGIYEALELR TAIQAAAGYPDK IEEALGDK	96 54 59	902.9704 567.7911 437.7287	2 2 2
11	Creatine kinase M-type	CKM	KCRM_BOVIN	516	33	12 – 25 87 – 96 178 – 209 178 – 209 178 – 209 178 – 209 224 – 236 308 – 314 308 – 314 320 – 341 321 – 341	LNFKAEEEYPDLSK DLFDPIIQDR SMTEQEQQQLIDDHFLFDKPVSPLLASG MAR SMTEQEQQQLIDDHFLFDKPVSPLLASG MAR SMTEQEQQQLIDDHFLFDKPVSPLLASG MAR SMTEQEQQQLIDDHFLFDKPVSPLLASG MAR SMTEQEQQQLIDDHFLFDKPVSPLLASG MAR	99 68 50 50 38 43 37 47 44 44 96 135	841.9206 616.2946 911.9479 915.9500 915.9506 919.9460 919.9462 548.6052 454.2142 454.7284 717.6838 997.9621	2 2 4 4 4 3 2 2 3 2 3 2

						321 – 341 342 – 358 370 – 381	SFLVVVNEEDHLR FEEILTR FEEILTR RGTGGVDTAAVGSVFDVSNADR GTGGVDTAAVGSVFDVSNADR GTGGVDTAAVGSVFDVSNADR LGSSEVEQVQLVVDGVK GQSIDDMIPAQK	40 73 57	665.6469 893.4633 659.8098	3 2 2
11	Actin, alpha skeletal muscle	ACTA1	ACTS_BOVIN	794	45	21 – 30 31 – 41 53 – 63 53 – 64 53 – 64 87 – 97 98 – 115 150 – 179 150 – 179 150 – 179 199 – 208 241 – 256 293 – 314 293 – 314 318 – 328 331 – 337 362 – 374 362 – 374	AGFAGDDAPR AVFPSIVGRPR DSYVGDEAQSK DSYVGDEAQSKR DSYVGDEAQSKR IWHHTFYNELR VAPEEHPTLLTEAPLNPK TTGIVLDSDGDGVTHNPIYEGYALPHAI MR TTGIVLDSDGDGVTHNPIYEGYALPHAI MR TTGIVLDSDGDGVTHNPIYEGYALPHAI MR GYSFVTTAER SYELPDGQVITIGNER KDLYANNVMSGGTTMYPGIADR KDLYANNVMSGGTTMYPGIADR EITALAPSTMK IIAPPER QEYDEAGPSIVHR QEYDEAGPSIVHR	89 69 58 102 86 65 85 54 44 124 46 100 67 68 45 42 75 102	488.7017 400.2415 599.7134 677.8068 452.2102 758.3664 978.5275 799.9010 803.8937 1071.529 2 565.7307 895.8881 802.6978 803.0262 581.3057 398.2213 500.8881 750.8438	2 3 2 2 3 2 2 4 4 3 2 3 3 2 2 2 3 2 2
11	Beta-enolase	ENO3	ENOBOVIN	514	20	33 – 50 133 – 162 133 – 162 163 – 179 163 – 179 229 – 239 240 – 253	AAVPSGASTGIYEALELR HIADLAGNPELILPVPAFNVINGGSHAGN K HIADLAGNPELILPVPAFNVINGGSHAGN K HIADLAGNPELILPVPAFNVINGGSHAGN K HIADLAGNPELILPVPAFNVINGGSHAGN K HIADLAGNPELILPVPAFNVINGGSHAGN K HIADLAGNPELILPVPAFNVINGGSHAGN K HIADLAGNPELILPVPAFNVINGGSHAGN K LAMQE FMLPGASSFR LAMQE FMLPGASSFR TAIQAAGYPDK VVIGMDVAASEFYR	130 73 57 50 42 50 42 57 73 78 41 69 67	902.9665 759.6484 1012.529 5 759.6523 759.6542 759.8947 759.8955 1012.858 9 759.8983 964.9709 643.6541 567.7814 786.8881	2 4 3 4 4 4 4 3 4 2 3 2 2 2

11	Phosphoglycerate kinase 1	PGK1	PGK1_BOVIN	160	17	76 – 86 157 – 171 172 – 183 200 – 216 280 – 297	YSLQPVAELK LGDVYVNDAFGTAHR AHSSMVGVLNPK ALESPERPFLAILGGAK ITLPVDFVTADKFDENAK	50 54 60 50 71	623.8528 545.6056 628.3211 884.9933 675.0102	2 3 2 2 3
12	Fructose-bisphosphate aldolase A	ALDOA_A	ALDOA_RA BIT	765	40	29 – 42 29 – 43 44 – 57 44 – 57 61 – 69 61 – 69 88 – 99 109 – 134 112 – 134 112 – 134 112 – 134 154 – 173 174 – 201 174 – 201 244 – 258 244 – 258 323 – 331 323 – 331	GILADESTGSIAK GILADESTGSIKR LQSIGTENTEEENRR LQSIGTENTEEENRR QLLLTADDR QLLLTADDR ADDGRPPQVIK VDKGVVPLAGTNGETTQGLDGLSER GVVPLAGTNGETTTQGLDGLSER GVVPLAGTNGETTTQGLDGLSER GVVPLAGTNGETTTQGLDGLSER IGEHTPSALAIMENANVLAR YASICQQNGIVPIVEPEILPDGDHDLKR YASICQQNGIVPIVEPEILPDGDHDLKR YSHEEIAMATVTALR YSHEEIAMATVTALR AAQEEYVKR AAQEEYVKR	98 93 72 69 75 68 70 82 55 86 58 37 90 90 64 91 57 49	666.8185 496.9381 549.5740 823.9006 522.7873 522.7897 671.8500 872.1123 758.3726 1137.061 4 758.3798 708.3645 794.8947 795.1492 569.9489 854.4210 365.1917 547.2872	2 3 3 2 2 2 2 3 3 2 3 3 4 2 2 3 2
12	Creatine kinase M-type	CKM	KCRM_BOVIN	299	16	87 – 96 157 – 170 320 – 341 321 – 341 342 – 358	DLFDPIIQRDR LSVEALNSLTGEFK RGTGGVDTAAVGSVFVDVSNADR GTGGVDTAAVGSVFVDVSNADR LGSSEVEQVQLVVDGVK	67 107 67 98 90	616.3173 754.4005 717.6850 997.9691 893.4795	2 2 3 2 2
12	Troponin T	Tnnt3	TNNT3_BOVIN	203	17	77 – 95 80 – 95 159 – 173 197 – 210	QNKDLMELQALIDSHFEAR DLMELQALIDSHFEAR ALSSMGANYSSYLA KPLNIDHLSEDKLR	42 80 110 62	753.0346 952.4594 789.8734 420.2323	3 2 2 4
12	Actin, aortic smooth muscle	ACTA2	ACTA_BOVIN	73	9	199 – 208 241 – 256 318 – 328	GYSFVTTAER SYELPDGQVITIGNER EITALAPSTMK	46 45 44	565.7805 895.9483 589.3143	2 2 2
12	Aspartate aminotransferase	GOT2	AATM_BOVIN	72	2	326 – 337	IASTILTSPDLR	72	643.8674	2
12	Tropomyosin alpha-1 chain	TPM1	TPM1_BOVIN	70	8	92 – 101 252 – 264	IQLVEEELDR SIDDLEDELYAQK	62 40	622.3305 769.8637	2 2
13	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	GAPDH	G3P_BOVIN	675	34	71 – 78 71 – 78 71 – 84 116 – 137 117 – 137 117 – 137 161 – 184 161 – 184	AITIFQER AITIFQER AITIFQERDPANIK RVIIISAPSADAPMFVMGVNHEK VIISAPSADAPMFVMGVNHEK VIISAPSADAPMFVMGVNHEK VIHDHFQIVEGLMTTVHAITATQK VIHDHFQIVEGLMTTVHAITATQK	45 45 84 64 45 38 90 12	489.2519 489.7628 808.4425 801.0722 743.6997 749.0253 873.4567 878.7804	2 2 2 3 3 3 3 3

						161 – 184 161 – 184 199 – 213 199 – 213 199 – 213 199 – 213 233 – 246 308 – 321 322 – 332 322 – 333	VIHDHFGIVEGLMTTVHAITATQK VIHDHFGIVEGLMTTVHAITATQK GAAQNIIPASTGAAK GAAQNIIPASTGAAK GAAQNIIPASTGAAK GAAQNIIPASTGAAK VPTPNVSVDLTCR LISWYDNEFGYSNR VVDFLMVHMASK VVDFLMVHASKE	44 74 61 46 61 46 46 06 88 46 74	527.6736 878.7910 685.3019 685.3722 685.8197 685.8580 778.9023 882.3849 631.3131 695.8389	4 3 2 2 2 2 2 2 2 2
13	Tropomyosin alpha-1	TPM1	TPM1_BOVI_N	182	21	38 – 48 78 – 90 92 – 101 113 – 125 252 – 264	QLEDELVSLQK ATDAEADVASLNR IQLVEEELDR LEEAEKAADESER SIDDLEDELYAQK	50 94 66 54 47	651.3454 666.8214 622.3279 493.0413 769.8565	2 2 2 3 2
13	Tropomyosin beta chain	TPM2	TPM2_BOVI_N	153	17	78 – 90 92 – 101 113 – 125 252 – 264	ATDAEADVASLNR IQLVEEELDR LEEAEKAADESER TIDDLDEDEVYAQK	94 66 54 40	666.8214 622.3279 493.0413 769.8585	2 2 3 2
13	Creatine kinase M-typ	CKM	KCRM_BOV_IN	78	4	342 – 358	LGSSEVEQVQLVVDGVK	78	893.4857	2
14	Tropomyosin alpha-1	TPM1	TPM1_BOVI_N	635	30	13 – 21 13 – 21 36 – 48 38 – 48 77 – 90 78 – 90 78 – 90 78 – 91 92 – 101 92 – 105 113 – 125 113 – 125 168 – 178 169 – 178 252 – 264 252 – 264	LDKENALDR LDKENALDR SKQLEDELVSLQK QLEDELVSLQK KATDAEADVASLNR ATDAEADVASLNR ATDAEADVASLNR ATDAEADVASLNRR IQLVEEELDR IQLVEEELDRAQER LEEAEKAADESER LEEAEKAADESER KLVIIESDLER LVIIESDLER SIDDLEDELYAQK SIDDLEDELYAQK	55 85 43 69 127 71 79 52 68 103 81 62 68 76 42 59	358.5214 537.2818 506.2755 651.3461 730.8677 666.8192 666.8240 496.9171 622.3221 576.6312 738.8407 492.8963 657.8818 593.8350 769.8577 769.8591	3 2 3 2 2 2 2 3 2 3 2 3 2 2 2 2 2
14	Tropomyosin beta chain	TPM2	TPM2_BOVI_N	471	17	13 – 21 13 – 21 77 – 90 78 – 90 78 – 90 78 – 91 92 – 101 92 – 105 113 – 125 113 – 125	LDKENAIDR LDKENAIDR KATDAEADVASLNR ATDAEADVASLNR ATDAEADVASLNR ATDAEADVASLNRR IQLVEEELDR IQLVEEELDRAQER LEEAEKAADESER LEEAEKAADESER	55 85 127 71 79 52 68 103 81 62	358.5214 537.2818 730.8677 666.8192 666.8240 496.9171 622.3221 576.6312 738.8407 492.8963	3 2 2 2 2 3 2 3 2 3

14	Glyceraldehyd e-3-phosphate dehydrogenase	GAPD H	G3P_BOVIN	152	22	71 – 78 161 – 184 199 – 213 233 – 246 308 – 321	AITIFQER VIHDHFGIVEGLMTTVHAITATQK GAAQNIIPASTGAAK VPTPNVSVDLTCR LISWYDNEFGYSNR	45 46 60 55 71	489.2730 878.7882 685.3702 778.9045 882.4029	2 3 2 2 2
14	Malate dehydrogenase	MDH2	MDHM_BO VIN	136	15	27 – 45 53 – 74 166 – 176	VAVLGASGGIGQPLSLLK LTLYDIAHTPGVAADLSHIETR IFGVTTLDIVR	47 78 77	897.0517 599.0629 617.3629	2 4 2
14	Malate dehydrogenase	MDH1	MDHC_BO VIN	103	6	221 – 230 299 – 310 299 – 310	GEFIFTVQQR VVEGLPINDFSR VVEGLPINDFSR	61 51 51	589.8123 673.3397 673.8458	2 2 2
14	Fructose-1,6-bisphosphatase isozyme 2	FBP2	F16P2_BOVIN	102	9	209 – 218 219 – 230 245 – 255	IYSLNEYAK YFDAATTEYVQK YVGSMVADVHR	51 64 48	579.2955 718.3387 417.2080	2 2 3
15	L-lactate dehydrogenase A	LDHA	LDHA_BOS MU	261	20	58 – 73 58 – 73 60 – 73 77 – 90 158 – 169 213 – 228 269 – 278	LKGEMMDLQHGSLFLR LKGEMMDLQHGSLFLR GEMMDLQHGSLFLR IVSGKDYNVTANSR VIGSGCNLDSAR NLHPELGTDADKEQWK RVHPISTMIK	85 85 41 47 82 40 41	477.4849 636.3169 833.3864 508.5990 624.8034 627.6363 399.8956	4 3 2 3 2 3 3
15	Fructose-bisphosphate aldolase A	ALDO A	ALDOA_RA BIT	125	10	29 – 42 61 – 69 244 – 258	GILAADESTGSIAK QLLLTADDR YSHEEIAMATVTALR	82 52 52	666.8487 522.7864 569.9454	2 2 3
15	Glyceraldehyd e-3-phosphate dehydrogenase	GAPD H	G3P_BOVIN	62	4	199 – 213	GAAQNIIPASTGAAK	62	685.3721	2
16	Glycogen phosphorylase	PYGM	PYGM_SHE EP	111	4	643 – 650 726 – 740 741 – 754	VIFLENYR GYNAQEYYDRPELR HIIDQLSSGFSPK	47 54 82	527.2910 629.6354 788.4091	2 3 2
17	Glycogen phosphorylase	PYGM	PYGM_SHE EP	198	7	623 – 640 643 – 650 726 – 735 726 – 740 741 – 754 741 – 754 824 – 832	LITAIGDVVNHDPPVGDR VIFLENYR GYNAQEYYDR GYNAQEYYDRPELR HIIDQLSSGFSPK HIIDQLSSGFSPK EIWGVEPTR	49 45 79 72 59 41 41	945.4991 527.2872 639.7786 629.6357 788.4080 788.4118 543.7782	2 2 2 3 2 2 2
17	Carbonic anhydrase 3	CA3	CAH3_BOVIN	154	18	25 – 36 68 – 76 213 – 224 227 – 242	GENQSPIELNTK VVFDPTYDR EPITVSSDQIAK TLYSSAENEPPVPLVR	43 64 47 88	665.3358 565.2607 644.3438 886.4602	2 2 2 2
18	Phosphoglycerate mutase 2	PGAM 2	PGAM2_BO VIN	221	11	147 – 162 147 – 162 180 – 191 181 – 191	AGELPCTCESLKDTIAR AGELPCTCESLKDTIAR RVLIAAHGNSLR VLLIAAHGNSLR	102 102 39 68	587.6305 587.9629 436.2583 575.8371	3 3 3 2
18	Carbonic anhydrase 3	CA3	CAH3_BOVIN	194	28	25 – 36 37 – 57 68 – 76	GENQSPIELNTK EISHDPSLKPWTASYDPGSAK VVFDPTYDR	46 37 64	665.3284 762.7016 565.2496	2 3 2

						68 – 80 213 – 224 227 – 242	VVFDDTYDRSMLR EPITVSSDQIAK TLYSSAENEPPVPLVR	46 57 89	544.9263 644.3362 886.4609	3 2 2
18	Triosephosphate isomerase	TPI1	TPIS_BOVIN	98	10	161 – 175 195 – 206	VVLAYEPVWAIGTGK SNVSDAVAQSAR	57 70	801.9544 602.8013	2 2
18	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 3	NDUF S3	NDUS3_BOVIN	67	4	221 – 233	VVAEPVELAQEFR	67	743.8986	2
19	Triosephosphate isomerase	TPI1	TPIS_BOVIN	463	50	19 – 33 60 – 69 70 – 85 70 – 85 70 – 85 70 – 85 86 – 99 86 – 99 101 – 113 114 – 131 150 – 160 161 – 175 176 – 188 176 – 188	KNNLGELINTLNAAK IAVAAQNCYK VANGAFTGEISPGMIK VANGAFTGEISPGMIK VANGAFTGEISPGMIK VANGAFTGEISPGMIK DLGATWVVLGHSER DLGATWVVLGHSER HVFGESDELIGQK VAHALAEGLGVIACTIGEK VIADNVKDWSK VVLAYEPVWAIGTGK TATPQQAQEVHEK TATPQQAQEVHEK	87 54 39 39 64 51 51 53 80 79 54 68 76 62 52	806.9520 569.2922 796.4076 796.9050 804.4085 804.8935 513.9327 770.3988 729.8614 603.3303 637.8402 801.9416 733.8624 489.5785	2 2 2 2 2 2 3 2 2 2 3 2 2 2 3
19	Actin, alpha cardiac muscle 1	ACTC1	ACTC_BOVIN	111	15	199 – 208 241 – 256 318 – 328 331 – 337 362 – 374	GYSFVTTAER SYELPDGQVITIGNER EITALAPSTMK IIAPPER QEYDEAGPSIVHR	53 51 51 42 48	565.2626 895.9454 589.3107 398.2409 500.9065	2 2 2 2 3
19	Glutathione S-transferase Mu 1	GSTM 1	GSTM1_BOVIN	83	13	19 – 31 53 – 69	LLLEYTDTNYEER LGLDFPNLPYLIDGTHK	78 38	829.9011 638.3405	2 3
19	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	GAPDH	G3P_BOVIN	77	8	199 – 213 308 – 321	GAAQNIIPASTGAAK LISWYDNEFGYSNR	53 53	685.3720 882.4050	2 2
20	Heat shock protein beta-1	HSPB1	HSPB1_BOVIN	104	28	29 – 38 137 – 167 168 – 184	LFDQAFGLPR KYTLPPGVDP TLVSSLSPGT LTVEAPL PK SATQSAEITIPVTFQAR	46 59 52	582.3169 1065.245 4 910.4808	2 3 2
20	Fructose-bisphosphate aldolase A	ALDO	ALDOA_RA BIT	92	3	29 – 42	GILAADESTGSIAK	92	666.8524	2
20	Myosin light chain 4	Myl4	MYL4_MOU SE	88	6	80 – 92	ALQNPTNAEVLR	88	691.8704	2

20	Myosin light chain 1/3, skeletal muscle isoform	MYL1	MYL1_BOV IN	64	6	79 – 90 79 – 91	ALGTNPTNAEVK ALGTNPTNAEVKK	46 45	607.8190 448.2452	2 3
20	Triosephosphate isomerase	TPI1	TPIS_BOVI IN	66	4	195 – 206	SNVSDAVAQSAR	66	602.7972	2
21	Myosin light chain 1/3, skeletal muscle isoform	MYL1	MYL1_BOV IN	370	40	9 – 32 9 – 35 9 – 35 79 – 90 79 – 91 79 – 91 123 – 135 136 – 151 136 – 151 140 – 151 140 – 151 152 – 160	KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPK KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPKEEK KPAAAAAPAPAPAPAPAPAPPKEEK ALGTNPTNAEVK ALGTNPTNAEVKK ALGTNPTNAEVKK DQGTYEDFVEGLR VFDKEGNNGTVMGAELR VFDKEGNNGTVMGAELR EGNGTVMGAELR EGNGTVMGAELR HVLATLGEK	86 92 68 50 54 41 65 40 38 47 47 42	700.0674 621.8401 828.7864 607.8079 671.8697 448.5772 764.8463 580.2837 870.4139 625.2954 625.7922 484.2797	3 4 3 2 2 3 2 3 2 2 2 2
21	Myosin light polypeptide 6	MYL6	MYL6_BOV IN	85	10	95 – 110 95 – 110 99 – 110 99 – 110	VFDKEGNNGTVMGAEIR VFDKEGNNGTVMGAEIR EGNGTVMGAEIR EGNGTVMGAEIR	40 38 47 47	580.2837 870.4139 625.2954 625.7922	3 2 2 2
21	Adenylate kinase isoenzyme 1	AK1	KAD1_BOV IN	81	11	10 – 21 156 – 166	IIFVVGGPGSGK ATEPVIAFYEK	63 46	565.8344 634.3328	2 2
22	Adenylate kinase isoenzyme 1	AK1	KAD1_BOV IN	256	29	32 – 44 32 – 44 64 – 77 89 – 97 98 – 107 156 – 167	GYYTHLSTGDLLR GYYTHLSTGDLLR GQLVPLETVLDMLR GFLIDGYPR EVQQGEEFER ATEPVIAFYEKR	97 90 70 40 56 79	499.2531 748.3793 800.4417 519.2739 625.7847 475.2546	3 2 2 2 2 3
23	Myosin regulatory light chain 2, skeletal muscle isoform	MYLPF	MLRS_BOV IN	119	22	33 – 42 61 – 73 92 – 106 94 – 106	EAFTVIDQNR LNVKNEELDAMMK LKGADPEDVITGAFK GADPEDVITGAFK	59 48 50 58	596.7998 783.8745 780.9138 660.3231	2 2 2 2
24	Myoglobin	MB	MYG_CAPH I	318	26	33 – 43 65 – 78 65 – 78 65 – 79 120 – 134 120 – 134 120 – 134	LFTGHPETLEK HGNTVLTALGGILK HGNTVLTALGGILK HGNTVLTALGGILKK HPSDFGADAQQGAMSK HPSDFGADAQQGAMSK HPSDFGADAQQGAMSK	55 90 102 49 53 61 118	636.3364 697.4064 697.4070 507.9735 512.2211 512.2232 767.8329	2 2 2 3 3 3 2
25	Myosin light chain 1/3, skeletal muscle isoform	MYL1	MYL1_BOV IN	93	10	68 – 78 152 – 160	ITLSQVGDVLR HVLATLGEK	83 40	600.8492 484.2864	2 2