

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

FONTES LIPÍDICAS SUPLEMENTARES PARA BOVINOS
NELORE CONFINADOS: DESEMPENHO, SAÚDE
RUMINAL E ANÁLISE PROTEÔMICA

LEONARDO ROSOLEN MÜLLER

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do título de
Doutor.

BOTUCATU - SP
Janeiro –2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

FONTES LIPÍDICAS SUPLEMENTARES PARA BOVINOS
NELORE CONFINADOS: DESEMPENHO, SAÚDE
RUMINAL E ANÁLISE PROTEÔMICA

LEONARDO ROSOLEN MÜLLER
Zootecnista

Orientador: Prof. Dr. Ciniro Costa
Coorientador: Prof. Dr. Mário De Beni Arrigoni
Prof. Dra. Cyntia Ludovico Martins

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do título de
Doutor

BOTUCATU - SP
Janeiro –2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Müller, Leonardo Rosolen.

Fontes lipídicas suplementares para bovinos nelore confinados : desempenho, saúde ruminal e análise proteômica / Leonardo Rosolen Müller. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Ciniro Costa

Coorientador: Mário De Beni Arrigoni

Coorientador: Cyntia Ludovico Martins

Capes: 50403001

1. Bovinos. 2. Confinamento (Animais). 3. Dieta. 4. Ácidos graxos.

Palavras-chave: Bovino ; Confinamento ; Gordura protegida .

Dedico

Ao meu filho, Bernardo Falcão Rosolen Müller, que Deus colocou em minha vida e me deu forças para cada vez mais lutar e deixar um legado. Deixo eternizado nesta tese o amor que tenho por você e que você é o principal motivo de eu lutar a cada dia para lhe proporcionar uma boa educação.

A minha esposa, Patricia Silva Falcão, por todo amor, carinho, compreensão e por me proporcionar algo inexplicável, que não existe palavras para mensurar a emoção de ser pai. Que possamos juntos, proporcionar educação e sabedoria para o Bernardo trilhar o seu caminho.

A minha avó, Lenira J. Salomão Rosolen, pelo exemplo de vida, força e perseverança, caráter, honestidade, conselhos e amor. O apoio da senhora fez toda a diferença para eu conseguir concluir mais essa etapa da minha vida. Sou imensamente grato por tudo o que a senhora fez e faz por mim.

A minha avó, Sueli, e meu avô, Ari Müller, por me apoiarem e incentivarem em mais esta etapa findada.

Aos meus pais Emerson e Simone, por me proporcionarem estudo e me dar forças para a conclusão desta caminhada.

Ao Geraldo, Zoraide e Ligia por me apoiarem e sempre me incentivarem em minha trajetória.

A todos meus familiares e às pessoas que acreditaram em meu potencial para desenvolver este projeto, dentre elas - em especial - aos meus Coorientadores Prof. Mário De Beni Arrigoni e Profa Cyntia Ludovico Martins.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus pela saúde e por ter me dado força e discernimento durante toda esta trajetória percorrida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ciniro Costa pela confiança, amizade, ensinamentos e oportunidade de estar ingressando e desenvolvendo minha tese de doutorado.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Mário De Beni Arrigoni, pela confiança, amizade, ensinamentos e oportunidade de desenvolvimento pessoal e profissional.

À Profa. Dr. Cyntia Ludovico Martins pela coorientação, amizade, incentivo e todo esforço para a elaboração, realização e conclusão deste projeto.

À Nutricorp, em especial ao Sr. Hélio e Bruno Cappellosa, pela apoio financeiro e confiança para a realização do experimento que deu origem a esta tese.

A minha esposa Patrícia e meu filho, Bernardo, por estarem ao meu lado nos momentos mais difíceis para a realização e conclusão desta tese.

Aos meus pais Emerson e Simone pelo apoio e incentivo nas mais difíceis decisões.

Aos meus avós por me apoiarem nessa trajetória e incentivo nas mais difíceis decisões.

Às minhas tias Claudia, Juliana e Katia e aos meus tios Luiz Fernando, Anderson e Fabio por estarem sempre comigo me apoiando nas tomadas de decisão.

Gostaria de manifestar minha imensa gratidão ao meu amigo Prof. Dr. Paulo Roberto de Lima Meirelles, pela orientação nos anos de graduação, confiança, por todas as oportunidades oferecidas, pelo apoio na pós-graduação, pelas longas conversas e sempre com muita paciência me incentivou a buscar forças para seguir em frente, novamente agradeço pela amizade.

Aos funcionários do confinamento Eduardo, Wilson e Sidney, pelo apoio durante o período experimental.

Aos amigos de equipe de pós-graduandos por todas as trocas de experiências e conhecimentos.

A todos os estagiários e a equipe Nutrir por todas as trocas de experiências, conhecimentos e pelo auxílio na condução do experimento.

Aos meus grandes companheiros, que sem vocês, a qualidade das coletas, resultados e tabulação de dados, foi possível graças a vocês, Daniel “Conka”, Andre

“Capiáu”, Guilherme Alvarenga, Vitoria “Ursa”. Fica meu sincero agradecimento a todos vocês por todo esforço e comprometimento.

Às funcionárias da Seção de Pós-graduação Seila Vieira, Ellen Guilhen e Cláudia Moreci pela ajuda, paciência e colaboração durante a realização do doutorado. À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

Aos funcionários do DMNA em especial ao Luís Carlos (*in memoriam*), Claudemir e Andressa pela atenção e ajuda. Aos demais professores e funcionários do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, Departamento de Produção Animal, Supervisão das Fazendas de Ensino Pesquisa e Extensão da FMVZ – UNESP, pela colaboração nesta jornada.

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

A todos, muito obrigado!

BIOGRAFIA DO AUTOR

Leonardo Rosolen Müller nascido em 31 de agosto de 1992, na cidade de Rio Claro – SP, cursou o ensino fundamental e médio no colégio Anglo Claretiano – SP. Em 2011 iniciou o curso de Zootecnia pela Universidade Federal de Uberlândia, aonde em 2012 transferiu para FMVZ, UNESP – Botucatu – SP, onde obteve o grau de zootecnista em Dezembro de 2015. Durante esse período foi bolsista de extensão rural e participou do Grupo de Extensão em Manejo de Pastagem (GEMPA), como diretor e vice-diretor. Em agosto de 2016, iniciou o curso de mestrado em Zootecnia na área de concentração de Nutrição e Alimentação Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (UNESP), Campus de Botucatu, sendo que em 15 de junho de 2018 obteve o título de mestre em Zootecnia. Sendo em agosto de 2018, iniciou o curso de Doutorado em Zootecnia na área de concentração de Nutrição e Alimentação Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (UNESP), Campus de Botucatu. Durante o curso de Doutorado foi bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES.

SÚMARIO

Resumo.....	8
Abstract.....	9
Considerações iniciais.....	10
Capítulo 1 - “Effects of the association between whole cottonseed and calcium salts of fatty acids on nutrient intake, feedlot performance, and carcass characteristics of <i>Bos indicus</i> animals offered a high-concentrate diet¹”	25
Capítulo 2 - “Efeitos da associação entre caroço de algodão e sais cálcicos de ácidos graxos na característica química, perfil lipídico e Proteômico de bovinos Nelore confinados recebendo dietas ricas em concentrado”	82
Capítulo 3 – “Implicações”	123

Resumo: O experimento foi delineado para avaliar os efeitos da associação entre caroço de algodão (CA) e sais cálcicos de ácidos graxos (SCAG) sob o consumo de matéria seca (CMS), desempenho, características de carcaça, saúde ruminal e qualidade de carne de bovinos de corte *Bos indicus* recebendo dietas com alto teor de concentrado. No dia 0, 96 animais não castrados foram bloqueados pelo peso vivo (PV) inicial ($302 \pm 26,7$ kg), alocados aleatoriamente em 1 de 4 tratamentos: 1) **0CA**: 0% de CA e 5% de SCAG de óleo de palma, soja e algodão ($n = 6$), 2) **5CA**: adição de 5% de CA e 4% de SCAG de óleo de palma, soja e algodão ($n = 6$), 3) **10CA**: adição de 10% de CA e 3% de SCAG de óleo de palma, soja e algodão ($n = 6$) e 4) **15CA**: adição de 15% de CA e 2% de SCAG de óleo de palma, soja e algodão ($n = 6$). O período experimental durou 108 dias, enquanto o consumo de matéria seca (CMS) foi avaliado diariamente e as amostras de sangue e medidas de carcaça foram obtidas nos dias 0, 55 e 108 do estudo. No abate no dia 109, os bifes foram coletados para determinação do perfil químico e de ácidos graxos (AG) da carne. Não foram observados efeitos do tratamento ($P \geq 0,35$) sobre o CMS, desempenho, ganho médio diário (GMD), medidas de ultrassom de carcaça e variáveis químicas do bife. No entanto, a inclusão de SCAG nas dietas aumentou C12:0, C16:0, C16:1 trans-9, C17:0, C18:0, C18:1 cis-9, C18:2 cis-9,cis-12, C18 :3 cis-9,cis-12,cis-15, ingestão de AG saturado e insaturado ($P < 0,01$). Além disso, a adição de CA aumentou a flutuação do CMS e a eficiência alimentar ($P = 0,03$), mas diminuiu o marmoreio ($P \leq 0,03$). Uma interação tratamento x dia foi observada ($P < 0,01$) para a concentração sérica de leptina, pois os animais 10CA apresentaram maior concentração de leptina em d 103 vs. outros tratamentos ($P < 0,01$). Em relação ao perfil de ácidos graxos do bife, a adição de CA na dieta aumentou C18:2 cis-7,trans-9 e C18:3 cis-9,cis-12,cis-15 ($P < 0,001$), enquanto que os ácidos graxos saturados foram afetados quadraticamente ($P = 0,02$) e a AG insaturada foi reduzida para 15WC ($P < 0,04$). Em resumo, o aumento dos níveis de SCAG à medida que a CA diminuiu em dietas isolipídicas de terminação não afetou o desempenho do confinamento, mas aumentou a eficiência alimentar e os escores de marmoreio de bovinos *Bos indicus*, demonstrando sua viabilidade como uma tecnologia para melhorar as características de carcaça de animais de baixo marmoreio.

Palavra chave: Confinamento, Lipídios, Bovinos.

Abstract: The experiment was designed to evaluate the effects of the association between cottonseed (CA) and calcium fatty acid salts (SCAG) on dry matter intake (DMI), performance, carcass traits, rumen health and meat quality. of *Bos indicus* beef cattle receiving diets with high concentrate content. On day 0, 96 non-castrated animals were blocked by initial live weight (LW) (302 ± 26.7 kg), randomly allocated to 1 of 4 treatments: 1) 0CA: 0% CA and 5% SCAG from coconut oil. palm, soybean and cotton (n = 6), 2) 5CA: addition of 5% CA and 4% SCAG of palm oil, soybean and cotton (n = 6), 3) 10CA: addition of 10% CA and 3% SCAG from palm, soybean and cotton oil (n = 6) and 4) 15CA: addition of 15% CA and 2% SCAG from palm, soybean and cotton oil (n = 6). The experimental period lasted 108 days, while dry matter intake (DMI) was evaluated daily and blood samples and carcass measurements were obtained on days 0, 55 and 108 of the study. At slaughter on day 109, the steaks were collected to determine the chemical and fatty acid (FA) profile of the meat. No treatment effects ($P \geq 0.35$) were observed on DMI, performance, average daily gain (ADG), carcass ultrasound measurements and steak chemical variables. However, the inclusion of SCAG in the diets increased C12:0, C16:0, C16:1 trans-9, C17:0, C18:0, C18:1 cis-9, C18:2 cis-9, cis-12, C18:3 cis-9,cis-12,cis-15, saturated and unsaturated FA ingestion ($P < 0.01$). In addition, addition of CA increased CMS float and feed efficiency ($P = 0.03$), but decreased marbling ($P \leq 0.03$). A treatment x day interaction was observed ($P < 0.01$) for serum leptin concentration, as 10CA animals had higher leptin concentration on d 103 vs. other treatments ($P < 0.01$). Regarding the fatty acid profile of steak, the addition of CA in the diet increased C18:2 cis-7,trans-9 and C18:3 cis-9,cis-12,cis-15 ($P < 0.001$), while saturated fatty acids were quadratically affected ($P = 0.02$) and unsaturated FA was reduced to 15WC ($P < 0.04$). In summary, increasing SCAG levels as CA decreased in isolipid finishing diets did not affect feedlot performance, but increased feed efficiency and marbling scores of *Bos indicus* cattle, demonstrating its viability as a technology to improve the carcass characteristics of low marbling animals.

Keywords::Feedlot, Lipids, Cattle.

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. *Uso de lipídio nas dietas.*

Os altos teores de concentrado, vem sendo cada vez mais utilizado para aumentar a eficiência de produção e desempenho dos animais, sendo um fator de risco para ocorrência de distúrbios metabólicos em bovinos (PINTO & MILLEN, 2016). Os levantamentos americanos mostram que os níveis de concentrado são superiores a 90% de concentrado, entretanto, os distúrbios metabólicos mais comuns e de maior impacto econômico em confinamentos americanos são a acidose, timpanismo e abscesso hepático (VACSCONCELOS e GALYEAN, 2007). A acidose, é a maior responsável pela redução na eficiência e desempenho animal, além de provocar abscesso hepático e ruminites (OWENS et al., 1998). Com 34,4%, a acidose nos confinamentos brasileiros vem sendo descrita como a segunda doença mais frequente (PINTO & MILLEN, 2016).

A inclusão de lipídios nas dietas vem sendo estudado por anos para possíveis substituições dos carboidratos altamente fermentáveis como o amido, visto o potencial energético dos lipídicos quando oxidado de forma completa produz em média 9,45 kcal/g, sendo este valor 2,25 vezes mais energia que a oxidação de carboidratos (ARRIGONI et al., 2016). A sua inclusão é uma estratégia eficiente para aumentar a densidade energética, a sua inclusão depende principalmente da quantidade de forragem fornecida aos ruminantes. Dietas à base de volumoso podem receber até 4% de extrato etéreo na base da matéria seca, mas quando as condições alimentares alteram para dietas ricas em concentrado, os animais podem receber até 6% de lipídios, sem prejuízos na digestibilidade dos outros componentes da dieta, principalmente da fração fibra. Alguns efeitos deletérios podem ser causados por elevadas quantidades de extrato etéreo na dieta, limitando a sua inclusão de no máximo 20% da energia metabolizável da dieta (HESS et al. 2008).

Os ácidos graxos compõem os lipídios, sendo pertencentes a dois grupos, os ácidos graxos saturados e insaturados, sendo este estado muito importante para as características química e nutricional (AFERRI, 2003). Além de possuírem papéis primordiais no metabolismo de ruminantes: diminuindo a produção de calor no rúmen, pois não são utilizados pela microbiota como fonte de energia, podem promover a mitigação de metano, aumentam a capacidade de absorção de vitaminas lipossolúveis,

além do fornecimento de ácidos graxos essenciais e de atuarem como precursores de moléculas regulatórias (ARRIGONI et al., 2016).

A principal fonte de lipídios em dietas de confinamentos são as oleaginosas, que possuem teor em torno de 18 a 50% de extrato etéreo, dentro desse nível, existe uma predominância de ácido linoleico (C18:2) e oleico (C18:1; ARRIGONI et al., 2016). O excesso de lipídios contido nestes alimentos podem ser fatores limitantes da sua inclusão nas dietas de bovinos, visto que podem ocasionar prejuízos em relação ao consumo de matéria seca e prejuízo no desempenho dos animais, além de afetarem a digestibilidade da fibra ingerida (SOUZA, 2008; MEDEIROS; ALBERTINI, 2012). Isso se deve ao fato de o rúmen ser intolerante a altos níveis de lipídios, sendo os insaturados os causadores de prejuízos na microbiota ruminal, devido à adsorção dos ácidos graxos às partículas de alimento e às bactérias, ocasionando também, uma toxicidade sobre as bactérias celulolíticas, devido à natureza anfipática dos ácidos graxos insaturados (PALMQUIST; MATTOS, 2006).

De modo a contornar os efeitos deletérios que os ácidos graxos insaturados acometem quando entram no rúmen, foi desenvolvido pelas bactérias um mecanismo de retirar as insaturações, sendo denominado de biohidrogenação. Para ocorrer a biohidrogenação, os triacilgliceróis são hidrolisados para serem separados em glicerol e ácidos graxos, sendo os insaturados, biohidrogenados. Esta modificação que ocorre nos ácidos graxos da dieta consumida é determinante na alteração do perfil que sai do rúmen e é depositado nos tecidos (PALMQUIST, 2001; JENKINS et al., 2008).

As principais espécies de microorganismos responsáveis pela biohidrogenação são as *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Anaerovibrio lipolytica* e *Propionibacter spp.* Este processo ocorre por meio de isomerização de ácidos graxos intermediários para a forma *trans*, seguida da hidrogenação das duplas ligações (ARRIGONI et al., 2016). Durante estas etapas, existe a formação de vários intermediários, sendo um destaque a formação do ácido linoleico conjugado (CLA), que está envolvido em alguns processos fisiológicos, favorecendo alguns efeitos anticarcinogênicos, antiteratogênicos, modulação do metabolismo intermediário e resposta imune dos animais (KOZLOSKI, 2011). Alguns fatores podem interferir nesse processo de biohidrogenação tais como o tipo e quantidade de lipídios que chegam no rúmen e o pH ruminal, são fatores que determinam a biohidrogenação incompleta (JENKINS et al., 2008). Dos ácidos graxos

insaturados ingerido, somente 25% chega no intestino delgado, onde são absorvidos por difusão passiva (KOZLOSKI, 2011).

Os níveis de extrato etéreo utilizado nas dietas, nem sempre são favoráveis em aumentar o desempenho e eficiência alimentar (Krenbel, 2006). A atual busca pelos pesquisadores vem sendo por ácidos graxos que impactem o mínimo possível na cinética ruminal. Dentro deste contexto, o uso de oleaginosas se sobressai em relação aos óleos, visto que proteção física causada pela casca, permite uma liberação lenta dentro do rúmen, promovida pela ruminação do animal (Müller, 2018). Outro produto que vem sendo estudado, este com aplicação tecnológica para a formação de uma proteção química, são os sais de cálcio de ácidos graxos. Estes compostos possuem a sua proteção relacionada com o perfil de ácidos graxos existente nos lipídios que serão utilizados, sendo assim, quanto maior o nível de insaturação do ácido graxo menor é proteção (CAPPELLOZZA, 2020).

Os sais de cálcio de ácidos graxos mantem uma porcentagem relativamente alta inerte no rúmen, em condições de pH (6,0), sendo completamente dissociado no abomaso, onde o pH é mais ácido. Diferente da proteção física, a proteção química faz com que os lipídios sofram pouca biohidrogenação, permitindo a absorção intestinal de ácidos graxos essenciais, que são insaturados e os bovinos não produzem (CAPPELLOZZA, 2020).

De acordo com levantamentos realizados o caroço de algodão é o insumo mais utilizado como fonte lipídica nas dietas de confinamento (PINTO & MILLEN, 2016). Um coproduto da indústria têxtil obtido pela remoção quase total da fração fibrosa, mas apresentando alto teor de FDN, $47,82 \pm 6,96\%$ da MS, devido ao línter, resquício de fibra que se apresenta fortemente aderida à semente. Além do CA apresentar altos níveis de EE, $19,45 \pm 2,59\%$ da MS, e $22,87 \pm 2,53\%$ da MS de PB (NRC, 2016).

Pesce (2008), avaliando dietas contendo alto concentrado, e inclusão de até 20% de CA(% da MS), verificou teores de EE de 7%, com aumento no ganho médio diário, peso final e eficiência alimentar dos bovinos, não comprometendo, entretanto, o CMS. Zinn e Plascencia (1993), utilizando dietas com 80% de concentrado, avaliaram o efeito da inclusão de 20% de CA. O consumo de matéria seca dos animais não foi afetado. No entanto foram encontrados efeitos de redução na digestibilidade ruminal da matéria orgânica das dietas. Zinn (1995) avaliou dietas com inclusão 15% e também encontrou redução na digestibilidade da matéria orgânica e da síntese de proteína microbiana, sem afetar o consumo dos animais. Gouvêa (2015) analisou a inclusão de 0, 8, 16, 24 e 32%

da MS e observou que o aumento da inclusão de caroço de algodão nas dietas reduziu desempenho, consumo de matéria seca, eficiência alimentar e características de carcaça.

O segundo insumo mais utilizado são os sais de cálcio de ácido graxo, mas ainda existem alguns resultados inconclusivos. Aferri et al. (2005) o CMS do tratamento que recebeu SCAG foi menor quando comparado ao caroço de algodão (CA) e o GMD e EA não houve diferença entre todos os tratamentos. Barducci et al. (2015) notaram que os tratamentos que receberam torta de algodão e SCAG obtiveram um GMD maior que o tratamento controle, a IMS do tratamento com torta de algodão foi maior, encontrando diferença também na CA e EA.

Entretanto, outros autores também aferiram que não houve diferença no CMS de bovinos não castrados quando se adicionou SCAG (ROSA et al, 2013; FIORENTINI et al., 2014; LADEIRA et al., 2014). Para GMD, os trabalhos mostram que ocorre aumento quando se inclui SCAG nas dietas (SILVA et al., 2007; FIORENTINI et al., 2012; ROSA et al., 2013). Nigdi et al. (1990) forneceram dietas com 85% de concentrado contendo 0, 2, 4 e 6% de cálcio saponificado e observaram que o aumento da concentração do composto de cálcio na dieta reduziu o CMS, mas a ingestão de AG aumentou. Essas melhoras de acordo com Zinn e Shen (1996), se deve ao maior teor de energia metabolizável dos lipídios quando comparamos com os alimentos ricos em proteínas e carboidratos.

Além de melhorar o desempenho, a SCAG pode melhorar o acabamento dos animais. Fiorentini (2008), observou maior proporção de gordura estimada na carcaça de novilhas consumindo SCAG quando comparada às novilhas que receberam grãos de soja. Clinquart et al (1995) afirmam que a adição de gordura em dietas de terminação resulta em aumento de 5 a 15% no conteúdo de gordura subcutânea da carcaça. Pires et al. (2002), analisando o perfil de ácido graxo da carne, relataram o aumento dos teores de AG poliinsaturados, mais especificamente o ácido linoleico conjugado e linolênico, promovido pelas dietas com gordura protegida.

1.2 Curva de crescimento dos bovinos.

A composição corporal, bem como as fases de desenvolvimento dos bovinos para compreender as taxas de deposição de musculatura e tecido adiposo em bovinos de corte. O entendimento do crescimento animal, pode ser fundamental para a compreensão das modificações químicas e físicas e metabólicas (BOIN et al 1994).

O desenvolvimento dos tecidos, promove um aumento da massa corporal, resultante da produção de novas células. O crescimento pode ser medido em função do aumento na massa, resultante da hiperplasia e hipertrofia de diferentes tecidos (OWENS et al., 1993). Os diferentes tecidos que compõem o corpo, apresentam taxas de crescimento diferentes, que se alteram de acordo com a fase de vida em que o animal se encontra, sendo os dois tecidos mais tardios que se desenvolvem são os tecidos muscular e tecido adiposo (BERG; BUTTERFIELD, 1976). O tecido adiposo tem forte relação com qualidade de carne, mas o tecido intramuscular vem sendo bastante estudado para desenvolvimento de protocolos nutricionais para aumentar a deposição. O principal método de desenvolvimento desses tecidos se dá tanto por hiperplasia quanto por hipertrofia. No entanto, a deposição do tecido intramuscular e tecido adiposo ocorre em lugares distintos, mas também necessitam de substratos distintos para o metabolismo dos locais de acúmulo de gordura (HAUSMAN et al., 2009).

As fontes lipídicas suplementares contribuem para uma diferente composição de carcaça. Trabalho publicados, demonstrou que uma menor proporção de ossos e maior proporção de gordura estimada na carcaça de novilhas alimentadas com fontes de sais de cálcio de ácido graxo comparado com óleo de soja (FIORENTINI, 2008). Andrade et al. (2014) comparando a adição ou não de sais de cálcio de ácidos graxos observou maior deposição de gordura visceral em novilhos de cruzamento industrial. Além de entendermos a fonte utilizada existe a necessidade de dosarmos a quantidade fornecida, Owens e Gardner (1999) em uma meta-análise de dados visando entender os impactos do manejo e nutrição nas características de carcaça de bovinos confinados, relataram uma associação entre fornecimento de 4% de EE e o aumento da área de olho de lombo dos animais, além de influenciar no aumento do tecido adiposo intramuscular. Outro autor também relatou o aumento de gordura intramuscular e visceral quando os animais são suplementados com fontes lipídicas (ZINN, 1989).

Os lipídios fornecidos, são utilizados de diferentes formas nos tecidos. Os triacilgliceróis sofrem hidrólise e liberam monoacilgliceróis e ácidos graxos livres, o destino do substrato está vinculado com o tipo de tecido que será recebido e as condições metabólicas do animal. No tecido adiposo, ocorre uma conversão dos ácidos graxos livres em triacilgliceróis, sendo a principal forma de armazenamento neste tecido, diferente do que ocorre no tecido muscular, que os ácidos graxos são oxidados para produção de ATP (KOZLOSKI, 2011).

1.4. Perfil de ácidos graxos e oxidação lipídica.

As características nutricionais e sensoriais da carne, são determinadas pelas características biológicas do músculo, tecido adiposo subcutâneo e intramuscular, no entanto, estes parâmetros são influenciados pelo sexo, raça e idade do animal (PESCE, 2008). Além desses fatores, podemos controlar o grau de acabamento e porcentagem e gordura na carne, pelo tipo de alimentação que fornecemos para os animais (FELÍCIO, 1997). Dessa forma, é possível acompanhar as exigências que os consumidores vêm buscando quando analisam a carne bovina, sendo as características intrínsecas como gordura visível, cor e aparência e, as características sensoriais como maciez, os principais pontos observados (HENCHION et al, 2017). Sabendo desta importância e que normalmente é a resultante entre o balanço da energia e componentes da dieta e, requerimentos metabólicos (ERIKSSON; PICKOVA, 2007). No entanto, quando entre os componentes da dieta possuem ingredientes gordurosos o perfil lipídico da carne sofre grande influência (MEDEIROS e ALBERTINI, 2012).

Os ácidos graxos são classificados em saturados, monoinsaturados e poli-insaturados, sendo determinados pelo número de duplas ligações na estrutura molecular, as quais são inexistentes nos saturados. O perfil de ácidos graxos do tecido adiposo dos bovinos, apresenta grande quantidade de ácidos graxos saturados, sendo que estes possuem grande associação com problemas cardiovasculares (MCAFEE et al., 2010). Mas no perfil da carne bovina não existe somente ácidos graxos maléficos para a saúde humana, possui também ácidos graxos essenciais como o Ω -3 e Ω -6, que atribuem com diversos benefícios ao organismo humano (SCOLLAN, et al., 2006).

A dieta é um fator determinante no perfil lipídico da carne, Franzói (2013) observou que o fornecimento de sais de ácidos graxos reduzir a quantidade de ácidos graxos saturados na carne, fazendo com que cheguem maiores quantidade de ácidos graxos poli-insaturados para serem absorvidos e posteriormente depositados, em contra partida, não aumenta a quantidade de ácido linoleico conjugado. Estudo conduzido por Santarosa (2011) observou um aumento na quantidade de ácido linoleico conjugado, quando forneceu sais de cálcio de ácido graxo. Do ponto de vista nutricional o ácido linoleico conjugado, tem propriedades anticarcinogênicas, tem efeito antidiabéticos, reduz o desenvolvimento de aterosclerose e modula o sistema imunológico (PALMQUIST et al., 2005).

Realizar alterações no perfil lipídico da carne bovina torna-se possível por meio da manipulação do perfil lipídico da dieta fornecida e das fontes lipídicas utilizadas como estratégia alimentar (NUERNBERG, 2005). No entanto, as alterações lipídicas podem alterar o processo de armazenamento, devido a ocorrência de processos oxidativos. A vida útil, principalmente de produtos cárneos, pode ser determinada pelos processos oxidativos, que gera produtos indesejáveis do ponto de vista nutricional como ácidos, aldeídos, álcoois e cetonas, destrói vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos (CECCHI, 1999; HINNEBURG et al., 2006).

O processo de oxidação lipídica é auto catalítico que ocorre em membranas biológicas e alimentos, gerando perdas na qualidade do produto, sendo as alterações causadas pela oxidação podem ocorrer em frações lipídicas ou proteicas (JADHAV et al., 1996; DREHMER, 2005). As frações lipídicas são mais prejudicadas pela presença de ácidos graxos insaturados, visto que estes apresentam maior susceptibilidade (RAMALHO e JORGE, 2006).

A exposição dos produtos a condições de ar, temperatura elevadas, indicadores de radicais livres, luz e a combinação dos mesmos, tornam estes produtos sujeitos a oxidação (BAGGIO, 2004). Portanto, estas condições são comuns desde o abate dos animais até a exposição final. Após o abate, vem o processo de desossa, fatiamento e moagem dos cortes cárneos (alguns tipos de cortes cárneos), que promove rompimento das células liberando ferro, outros minerais de transição e enzimas, aumentando a exposição dos esfingolipídios e fosfolipídios das membranas celulares favorecendo assim o processo de oxidação.

O processo de oxidação dos ácidos graxos insaturados ocorre em três etapas, sendo a primeira a formação dos radicais livres, também denominado de radical peroxilipídico; na segunda etapa, a reação dos radicais livres, formando os hidroperóxidos, os quais são os principais produtos do início da reação do oxigênio com os ácidos graxos; já na terceira e última etapa, ocorre a formação de produtos não radicais (malonaldeído). A partir desta deterioração e a formação dos produtos secundários como as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), que podem ser utilizadas como indicadores do grau de deterioração das características sensoriais da carne devido à oxidação lipídica (CRACKEL et al., 1988; DREHMER, 2005)

Malonaldeído é um dos principais produtos da oxidação lipídica e é capaz de se ligar a duas moléculas de ácido tiobarbitúrico, fazendo com que a carne tenha uma pigmentação avermelhada que pode ser mensurada na espectrofotometria a 532nm e

600nm por meio da análise de TBARS (TORRES, 1988). Outras medições também são utilizadas como índice de peróxidos, valor de pH, índice de refração e a análise sensorial, para melhor especificação do grau de rancidez, visto que, produtos secundários como aldeído malônico, maior produto da degradação dos hidroperóxidos, pode estar relacionado em outras interações físico-químicas (FERRARI, 1998). Portanto, existe uma redução na qualidade da carne, deteriora o sabor, altera coloração, aumenta a perda de água.

A deterioração do sabor ocorre durante a peroxidação, os ácidos graxos poli-insaturados são degradados em componentes voláteis de cadeia curta, tais como aldeídos, cetonas, álcoois, ésteres e ácidos, fazendo com que o sabor e odor fossem alterados (TORRES e FERRARI, 2000; DREHMER, 2005). Outra característica alterada é a coloração, devido a transformação da oximioglobina em metamioglobina, decorrente do processamento, armazenamento e exposição em gôndolas para comercialização. A coloração é determinada pela composição de ácidos graxos na carne e pela concentração de antioxidantes presente na mesma (SCOLLAN et al., 2001).

Além desses fatores citados anteriormente, o pH da carne também influencia interagindo com o ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares influenciando seu estado físico e a reflexão da luz da superfície muscular (ABRIL et al., 2001). As alterações não são somente relacionadas com a qualidade do produto final, podem também trazer alterações que são maléficas a saúde humana, sendo que dentre os produtos secundários produzidos pela deterioração oxidativa dos ácidos graxos, os aldeídos estão relacionados a aterosclerose, ao diabetes, à mutagênese e, possivelmente ao câncer (MEDEIROS et al., 1996; TORRES e FERRARI, 2000)

1.4. Expressão proteica

A proteômica é uma área da pesquisa que envolve a análise global de proteínas celulares usando várias tecnologias, como eletroforese em gel bidimensional e espectrometria de massa, auxiliando no conhecimento de sistemas biológicos (ESPINDOLA et al., 2010). O principal objetivo desta tecnologia está na identificação de proteínas em amostras biológicas complexas (VALLEDOR E JORRIN, 2011).

Grandes partes dos processos celulares, existem proteínas que atuam no formato de enzimas, anticorpos, hormônios, componentes estruturais e receptores celulares (Aebersold e Mann, 2003). No entanto, as técnicas existentes são incapazes de identificar

todas as proteínas presentes no tecido ou extrato analisados, sendo que sua maior eficiência em análise dependerá não somente das propriedades do material e do objetivo do estudo, outros fatores que podem prejudicar a identificação de proteínas como, o nível de expressão e a abundância de proteínas (LIPPOLIS e REINHARDT, 2008).

Uma das áreas mais promissoras da pesquisa nas áreas biológicas, permitindo descobrir vias metabólicas nas diversas etapas celulares, gerando um conhecimento nas áreas de biologia celular e na bioquímica, além de possibilitar a identificação de novas moléculas bioativas em extratos biológicos naturais, auxiliando nas descobertas de novas tecnologias (NELSON & COX, 2011).

A classificação das metodologias utilizadas em análises proteômica, geralmente são dos tipos *bottom-up* ou *top-down*. O *bottom-up*, também conhecido como *shotgun*, inclui separação dos peptídeos obtidos após digestão das soluções proteicas complexas, seguida de análise por espectrometria de massas (MS). O *top-down*, diferentemente, analisa as proteínas intactas, submetendo-as à análise por MS. As vantagens de utilizar a *bottom-up*, seria pela maior sensibilidade e reprodutibilidade, mesmo para proteomas mais complexos (BARBOSA et al., 2012).

A *bottom-up* tem sido a técnica mais abordada entre os trabalhos proteômicos, sendo que as proteínas contidas em uma mistura complexa são digeridas quimicamente ou enzimaticamente, e os peptídeos resultantes são analisados por MS (AEBERSOLD; MANN, 2016). Além de quando utiliza essa abordagem permite inferir sobre a identificação da proteína através da comparação dos espectros de massa gerados com uma base de dados de proteínas e pela atribuição de sequência peptídica das proteínas, uma vez que os peptídeos podem ser unicamente atribuídos a uma única proteína ou compartilhados por mais de uma proteína.

A ionização do composto por espectrometria de massas é em uma mistura de íons que são separados de acordo com suas relações massa e carga (m/z), posteriormente isolados e submetidos a fragmentação, tornando-se possível a identificação (BENDIXEN, 2005). Após a identificação, é necessário um tratamento de bioinformática. Que entra como uma ferramenta para aplicação de técnicas computacionais, matemáticas e estatísticas para analisar os dados biológicos, produzindo e gerenciando a bioinformação (LUSCOMBE; GREENBAUM; GERSTEIN, 2001).

Dentro das pesquisas a proteômica vem abastecendo informações sobre a expressão de proteína celular e, assim, tentar revelar a função de alguns genes e, meio

dessas informações tentar explicar como o ambiente interage para controlar as funções celulares e as características fisiológicas dos organismos vivos (BENDIXEN, 2005).

Visto o cenário atual com aumento de demanda de commodities para exportação, sendo esses animais na grande maioria machos não castrado. Quando falamos no período de terminação dos bovinos a qualidade de carne e deposição de gordura é um foco de muitos estudos, sendo a gordura intramuscular a mais estudada. Pouco ou quase nada se encontra na literatura, a respeito de proteínas envolvidas na deposição de tecido subcutâneo. Dentro deste contexto, a proteômica pode contribuir para a identificação de possíveis marcadores, juntos com as técnicas genômicas e transcriptomas, proporcionando melhor conhecimento dos mecanismos que controlam o metabolismo lipídico e qualidade de carne (Sallata, 2019)

Nesse sentido foi realizado a experimentação apresentada no capítulo 2 denominado *“Effects of the association between whole cottonseed and calcium salts of fatty acids on nutrient intake, feedlot performance, and carcass characteristics of Bos indicus animals offered a high-concentrate diet”* e no capítulo 3 denominado *“Efeitos da associação entre caroço de algodão e sais cálcicos de ácidos graxos na característica química, perfil lipídico e Proteômico de bovinos Nelore confinados recebendo dietas ricas em concentrado”*

2. REFERÊNCIAS

- ABRIL, M.; CAMPO, M. M.; ÖNENÇ, A.; SAÑUDO, C.; ALBERTI, P.; NEGUERUELA, A. I. Beef colour evolution as a function of ultimate pH. Meat Science, Barking, v. 58, p. 69- 78, 2001.
- AEBERSOLD, Ruedi; MANN, Matthias. Mass spectrometry-based proteomics. Nature, v. 422, n. 6928, p. 198, 2003.
- AFERRI, G. Desempenho e características de carcaça de novilhos alimentados com dietas contendo diferentes fontes de gordura. 2003. 59 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.
- ALLEN, M. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. Journal of Dairy Science, Savoy, v. 83, p. 1598-1694, 2000.

ARIELI, A. Whole cottonseed in dairy cattle feeding: a review. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, v. 72, p. 97-110, 1998.

ARRIGONI, M. D. B.; MARTINS, C. L.; FACTORI, M. A. Lipid metabolism in the rumen. In: MILLEN, D. D.; PACHECO, R. D. L.; ARRIGONI, M. D. B. (Ed.). *Rumenology*. Switzerland: Springer, 2016. p. 103-126.

BARBOSA, Eduardo Buzolin et al. Proteômica: metodologias e aplicações no estudo de doenças humanas. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 58, n. 3, p. 366- 375, 2012.

BARDUCCI, R. S. et al. Ácidos graxos no desempenho e nas respostas imunológicas de bovinos Nelore confinados. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v. 50, n. 6, p. 499-509, 2015.

BARDUCCI, R. S. et al. Perfil de ácidos graxos e características da carne de bovinos Nelore confinados com diferentes fontes lipídicas protegidas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 68, p. 233-242, 2016.

BENDIXEN, E. The use of proteomics in meat science. *Meat Science*, v.71, p.138- 149, 2005.

BERG, R. T.; BUTTERFIELD, R. M. *New concepts of cattle growth*. Australia: Sydney University Press, 1976. 240 p.

BOIN, C. et al. Tourinhos Nelore em crescimento e acabamento. 2. Exigências de energia líquida de manutenção e eficiência de utilização da energia metabolizável para manutenção e crescimento. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 1994, Maringá. *Anais...* Maringá, p. 473, 1994.

BROWN, J. M. et al. Isomer-specific regulation of metabolism and PPARgamma signaling by CLA in human preadipocytes. *Journal of Lipid Research*, Bethesda, v. 44, p. 1287-1300, 2003

Cappellozza, B. I., Ferraretto, L. F., Vedovatto, M., & Moriel, P. (2020). Different profiles of fatty acids in Ca soaps on dissociation and modification by biohydrogenation in vitro. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 49. <https://doi.org/10.37496/rbz4920200172>

COPPOCK, C. E.; LANHAM, J. K.; HORNER, J. L. A review of nutritive value and utilization of whole cottonseed, cottonseed meal and associated by-products by dairy cattle. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam, v. 18, p. 89-129, 1987.

- DREHMER, A. M. F. Quebra de peso das carcaças e estudo de vida de prateleira da carne suína. 2005. 131 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.
- ESPINDOLA, Foued Salmen et al., Recursos de bioinformática aplicados às ciências ômicas como genômica, transcriptômica, proteômica, interatômica e metabolômica. Bioscience Journal, v. 26, n. 3, 2010
- FERRARI, C. K. B. Oxidação lipídica em alimentos e sistemas biológicos: mecanismos gerais e implicações nutricionais e patológicos. Revista de Nutrição, Campinas, v. 11, p. 3- 14, 1998.
- FERRINHO, A. M. Carço de algodão integral e vitamina E em dietas para bovinos Nelore confinados por 83, 104 e 111 dias. 2016. 111 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.
- FRANZÓI, M. C. S. Características da carne de bovinos nelore confinados suplementados com fontes de lipídios. 2013. 54 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013
- GOUVÊA, V. N. Carço de algodão em dietas contendo alto teor de concentrado para bovinos Nelore terminados em confinamento. 2015. 150 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.
- HAUSMAN, G. J. et al. BOARD-INVITED REVIEW: The biology and regulation of preadipocytes and adipocytes in meat animals. Journal of Animal Science, Champaign, v. 87, p. 1218-1246, 2009.
- HESS, B. W.; MOSS, G. E.; RULE, D. C. A decade of developments in the área of fat supplementation research with beef cattle and sheep. Journal of Animal Science, Champaign, v. 86, n. 14 (sup.), p. E188-204, 1998
- JADHAV, S. J., NIMBALKAR, S. S, KULKARNI, A. D. AND MADHAVI, D. L. Lipid oxidation in biological and food systems. In: Food Antioxidants, eds. D. L. MADHAVI, S. S. DESHPANDE AND D. K. SALUNKHE. Marcel Dekker, New York. p. 5-63, 1996.
- JENKINS, T. C. et al. Board-invited review: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. Journal of Animal Science, Champaign, v. 86, p. 397-412, 2008

JENKINS, T. C.; PALMQUIST, D. L. Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. *Journal of Dairy Science*, Savoy, v. 67, n. 5, p. 978-986, 1984.

KOZLOSKI, G. V. *Bioquímica dos ruminantes*. 3. ed. Santa Maria: UFSM, 2011. 216 p

KOZLOSKI, G. V. *Bioquímica dos ruminantes*. 3. ed. Santa Maria: UFSM, 2011. 216 p.

KREHBIEL, C. R. et al. Influence of grain type, tallow level, and tallow feeding system on feedlot cattle performance. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 73, n. 10, p. 2916-2921, 1995.

LIPPOLIS, J. D.; REINHARDT, T. A. Centennial paper: proteomics in animal science. *Journal of Animal Science*, v. 86, n. 9, p. 2430-2441, 2008.

MCAFEE, A. J.; MCSORLEY, E. M.; CUSKELLY, G. J.; MOSS, B. W.; WALLACE, J. M. W.; BONHAM, M. P.; FEARON, A. M. Red meat consumption: an overview of the risks and benefits. *Meat Science*, Barking, v. 84, n. 1, p.1-13, 2010.

MEDEIROS, M. H. G.; LOUREIRO, A. P. M.; CARVALHO, V. M. Lesões em DNA produzidos por produtos secundários da peroxidação lipídica. *Revista de Medicina*, Niterói, n. 75, p. 16-25, 1996.

MEDEIROS, M. H. G.; LOUREIRO, A. P. M.; CARVALHO, V. M. Lesões em DNA produzidos por produtos secundários da peroxidação lipídica. *Revista de Medicina*, Niterói, n. 75, p. 16-25, 1996.

MEDEIROS, S. R.; ALBERTINI, T. Z. Uso de alimentos ricos em lipídios para alimentação de bovinos de corte: recomendações de uso, limitações e impactos na qualidade da carne. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 8., Viçosa, MG. Anais... Viçosa, MG, 28 2012. Disponível em: . Acesso em: 15 set. 2017.

NEWBURG, D. S.; CONCON, J. M. Malonaldehyde concentrations in food are affected by cooking conditions. *Journal of Food Science*, Champaign, v. 45, p. 1681, 1980.

OWENS, F. N.; DUBESKI, P.; HANSON, C. F. Factors that alter the growth and development of ruminants. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 71, p. 3138- 3150, 1993.

OWENS, F. N.; GARDNER, B. A. A review of the impact of feedlot management and nutrition on carcass measurements of feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 77, p. 1-18, 1999.

SCOLLAN, N. D.; CHOI, N. J.; KURT, E.; FISHER, A. V.; ENSER, M.; WOOD, J. D. Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. *British Journal of Nutrition*, London, v. 85, p. 115-124, 2001.

TORRES, E. A. F. S.; FERRARI, C. K. B. Fatores físicos e bioquímicos da industrialização, preparo e armazenamento de alimentos e sua relação com radicais livres e a oxidação lipídica. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 11, n. 68-69, p. 19-25, 2000.

VALLEDOR, Luis; JORRÍN, Jesús. Back to the basics: maximizing the information obtained by quantitative two dimensional gel electrophoresis analyses by an appropriate experimental design and statistical analyses. *Journal of proteomics*, v. 74, n. 1, p. 1-18, 2011.

ZINN, R. A. et al. Influence of ruminal biohydrogenation on the feeding value of fat in finishing diets for feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 78, n. 7, p. 1738-1746, 2000.

ZINN, R. A. Influence of level and source of dietary fat on its comparative feeding value in finishing diets for steers: Feedlot cattle growth and performance. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 67, n. 4, p. 1029-1037, 1989.

CAPITULO 1

¹Este capítulo corresponde ao artigo científico que está publicado na revista

Translation Animal Science

DOI: <https://doi.org/10.1093/tas/txab207>

Effects of the association between whole cottonseed and calcium salts of fatty acids on nutrient intake, feedlot performance, and carcass characteristics of *Bos indicus* animals offered a high-concentrate diet¹

ABSTRACT. This experiment evaluated the effects of feeding whole cottonseed (**WC**) and/or calcium salts of fatty acids (**CSFA**) on dry matter intake (**DMI**), performance, and carcass characteristics of *Bos indicus* animals receiving a high-concentrate diet during the finishing phase. On day 0, 96 Nellore bulls were blocked according to initial body weight (**BW**; 302 ± 26.7 kg) into group pens (4 animals/pen) and, within blocks, pens were randomly assigned to receive: 1) 15% of WC and 2% of CSFA [dry matter (**DM**) basis] of palm, cottonseed, and soybean oil (**15WC**; $n = 6$), 2) 10% of WC and 3% of CSFA (DM basis) of palm, cottonseed, and soybean oil (**10WC**; $n = 6$), 3) 5% of WC and 4% of CSFA (DM basis) of palm, cottonseed, and soybean oil (**5WC**; $n = 6$), and 4) 0% of WC and 5% of CSFA (DM basis) of palm, cottonseed, and soybean oil (**0WC**; $n = 6$). Diets were formulated to be isocaloric, isonitrogenous, and isolipidic. Experimental period lasted 108 days, whereas dry matter intake (**DMI**) was evaluated daily and blood samples and carcass measurements were obtained on days 0, 55, and 108 of the study. Upon slaughter on day 109, steaks were collected for determination of the chemical and fatty acid (**FA**) profile of the meat. No treatment effects ($P \geq 0.35$) were observed on DMI, performance, average daily gain (**ADG**), carcass ultrasound measurements, and chemical variables of the steak. Nonetheless, including WC into the diets increased C12:0, C16:0, C16:1 *trans*-9, C17:0, C18:0, C18:1 *cis*-9, C18:2 *cis*-9,*cis*-12, C18:3 *cis*-

9,*cis*-12,*cis*-15, saturated, and unsaturated FA intake ($P < 0.01$). Moreover, adding WC increased DMI fluctuation and feed efficiency ($P = 0.03$), but decreased marbling ($P \leq 0.03$). A treatment $\times$ day interaction was observed ($P < 0.01$) for serum leptin concentration, as 10WC animals had greater leptin concentration on d 103 vs. other treatments ($P < 0.01$). Regarding steak FA profile, WC addition into the diet increased C18:2 *cis*-7,*trans*-9 and C18:3 *cis*-9,*cis*-12,*cis*-15 ($P < 0.001$), whereas saturated FA was quadratically affected ($P = 0.02$) and unsaturated FA was reduced for 15WC ($P < 0.04$). In summary, increasing levels of CSFA as WC decreased in isolipidic finishing diets did not impact feedlot performance, but increased feed efficiency and marbling scores of *Bos indicus* bulls, demonstrating its feasibility as a technology to improve carcass traits of low-marbling animals.

Key words: *Bos indicus*; calcium salts of fatty acids; isolipidic; marbling; performance; whole cottonseed.

INTRODUCTION

One of the main goals of lipid feedstuffs is to increase energy content of the diet and feed efficiency (**FE**) of the beef cattle herd (NASEM, 2016). In Brazil, whole cottonseed (**WC**) and calcium salts of fatty acids (**CSFA**) are the main lipid sources included into feedlot diets (Pinto and Millen, 2019). Besides WC adoption, its inclusion remains limited at 15% of dry matter (**DM**), given gossypol toxicity issues and potential negative effects on performance and meat sensorial traits (Cranston et al., 2006; Gouvêa et al., 2020). However, using WC as the sole lipid feedstuff might not be able to increase dietary ether extract (**EE**) content to values that can impact energy utilization and transfer into the carcass. As reported by Krehbiel et al. (2014), feedlot diets containing roughly 7% EE benefit performance and carcass traits (Zinn, 1989; Zinn et al., 2000). A feasible feedstuff that could be used to increase dietary EE and improve performance of feedlot cattle is the CSFA (Carvalho et al., 2020; Nascimento et al., 2020). To the best of our knowledge, no other study evaluated the effects of levels of both WC and CSFA into feedlot cattle diets. As these differ on protection against rumen biohydrogenation, the amount and profile of fatty acids (**FA**) entering the small intestine for absorption might also differ, significantly impacting metabolism and carcass traits (Jenkins et al., 2008).

Bos indicus are recognized as low-marbling breeds (Martins et al., 2005) and nutritional alternatives that promote marbling are warranted. In cattle, FA inhibit or stimulate gene expression, adipocyte differentiation, and carcass characteristics (Choi et al., 2015; Costa et al., 2020). Based on this rationale, we hypothesized that varying levels of WC and CSFA would improve performance and carcass traits of feedlot cattle. Therefore, our objective was to evaluate the effects of WC and CSFA on performance, nutrient intake, carcass traits, and meat FA profile of *B. indicus* feedlot cattle.

MATERIALS AND METHODS

This experiment was conducted at the experimental feedlot from the Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, located in Botucatu, São Paulo, Brazil (22°53'25" S, 48°27'19" W, and elevation of 828 m) from April to August 2019. All animals utilized herein were cared for in accordance with acceptable practices and experimental protocols reviewed and approved by the FMVZ/UNESP Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC #017/2019).

Animals, diets, and housing.

The experimental design used herein was randomized complete block design (**RCBD**). On day 0 of the experiment, 96 non-castrated Nellore animals were blocked by initial shrunk body weight (**BW** = 302 ± 26.7 kg; initial age = 20 ± 2 months) and allocated to 1 of 24 pens (4 animals/pen). Within blocks ($n = 6$), pens were randomly assigned to 1 of 4 treatments: 1) 15% of whole cottonseed (**WC**) and 2% of calcium salts of fatty acids [**CSFA**; dry matter (**DM**) basis] of palm, cottonseed, and soybean oil (**15WC**; $n = 6$; Nutri Gordura Terminação; Nutricorp, Araras, SP, Brazil), 2) 10% of WC and 3% of CSFA (DM basis) of palm, cottonseed, and soybean oil (**10WC**; $n = 6$; Nutri Gordura Terminação; Nutricorp), 3) 5% of WC and 4% of CSFA (DM basis) of palm, cottonseed, and soybean oil (**5WC**; $n = 6$; Nutri Gordura Terminação; Nutricorp), and 4) 0% of WC and 5% of CSFA (DM basis) of palm, cottonseed, and soybean oil (**0WC**; $n = 6$; Nutri Gordura Terminação; Nutricorp). A complete description of the FA profile of the lipid feedstuffs (WC and CSFA) is reported in Table 1, meanwhile Tables 2 and 3 report feedstuff composition and nutrient profile of the diets offered during the adaptation, growing, and finishing periods, respectively.

Given that, the overall objective of this experiment was to evaluate the associative effect of WC and CSFA, all diets were formulated to isolipidic, isonitrogenous, and isocaloric (Table 3). The experimental period lasted 108 d, whereas the adaptation, growing, and finishing diets were offered from d 0 to 15, 16 to 55, and 56 to 108, respectively. During the adaptation diet, all animals were allocated to *step-up* diets for a 15-d period, in which roughage amount was reduced from 40 to 28% (DM basis), as reported in Table 2. All diets were formulated using the Large Ruminant Nutrition System (Fox et al., 2004) and formulated to result in an average daily gain (**ADG**) of approximately 1.7 kg/d. Diets were offered twice a day (0900 and 1600 h), at a rate of 55:45% of the total amount, respectively, and all animals had *ad libitum* access to the diets and water. Throughout the experimental period, all animals were maintained in a roofed barn with concrete-based floors (7.5 m²/pen and 1.25 m of linear feedbunk/animal).

Seven days prior to beginning of the experiment, all animals were dewormed (Dectomax; Zoetis Saúde Animal, São Paulo, SP, Brazil), and vaccinated against clostridium (Covexin-10; MSD Saúde Animal, São Paulo, SP, Brazil). Moreover, from d -7 to -1 of the experimental design, all animals received a diet containing (DM basis) 35% sugarcane bagasse, 20% corn silage, 25% ground corn, 18% peanut meal, 0.5% urea, and 1.5% mineral-vitamin mix. Diets were offered at a rate of 2% BW obtained at feedlot facility arrival (d -7). This management was performed to provide similar substrates and potentially equalize the rumen microbiome profile of the animals prior to treatment administration.

Body weight, feed, and blood sampling.

Individual animal shrunk BW was collected at the beginning (d 0) and end of the experimental period (d 108) after 16 hours of feed and water withdrawal. With these BW

measurements, BW change (final minus initial BW) and overall ADG during the experiment were calculated and further analyzed. Additional full BW measurements were taken at the end of each dietary management (adaptation and growing diets on d 15 and 55, respectively), in order to follow-up herd performance as the experiment progressed. Intermediate full BW, instead of shrunk BW, was obtained to prevent extreme dry matter intake (**DMI**) fluctuations following management and realimentation that could result in any potential rumen disorders (Allen et al., 2009) and to avoid the trigger of an acute-phase response that feed withdrawal might cause on the animals and subsequently impair feedlot performance and health (Marques et al., 2012; Marques et al., 2019).

Throughout the experimental period, total DMI was evaluated daily from each pen by collecting and weighing refusals. Samples of the offered and nonconsumed feed were collected daily from each pen and dried for 96 hours at 50°C in forced-air ovens for dry matter (**DM**) determination. Total DMI of each pen was divided by the number of animals within each pen and expressed as kg/animal per d. In addition, total DMI was expressed in % of BW by dividing the average DMI and average BW (initial + final) of each pen during the experimental period. At the end of the experimental period (d 108), feed efficiency (**FE**) was calculated by dividing ADG and DMI, whereas DMI fluctuation was estimated by weighing diet offer and orts for actual DMI and fluctuation calculated as the difference between DMI on 2 consecutive d (Bevans et al., 2005).

Calculation of ration total digestible nutrients (**TDN**) concentration was performed according to equations proposed by Weiss et al. (1992), and samples were analyzed in duplicates by wet chemistry procedures for concentrations of crude protein (**CP**), ether extract (**EE**), and ash (AOAC, 1990). Neutral detergent fiber (**NDF**) was evaluated according to procedures described by Van Soest et al. (1991). Moreover, digestible energy (**DE**) and metabolizable energy (**ME**) were performed according to

equations described by NASEM (2016), whereas dietary calculations of net energy for maintenance (NE_m) and gain (NE_g) followed equations proposed by Zinn et al. (2002). For these equations, retained energy (RE) a high-frame 18-mo animal was: $RE = [0.0437 \times BW^{0.75}] \times ADG \times 1.097$ (NRC, 1984), where BW = mean BW minus 4%. Net energy for gain was determined through the estimation reported by Zinn and Shen (1998): $NE_g = NE_m \times 0.877 - 0.41$. Additionally, all feedstuffs used in the present experiment (Table 1) were analyzed for FA profile following procedures described in AOCS (2009) and according to total DMI, individual and total saturated, monounsaturated, and polyunsaturated FA intake was calculated for each treatment and subsequently reported herein.

On d 0, 55, and 103 of the experimental period, blood samples were collected for plasma concentrations of leptin and lactate. All blood samples were collected via jugular venipuncture into commercial blood collection tubes (Vacutainer, 10 mL; Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ). After collection, blood samples were centrifuged at 3,000 rpm for 15 minutes and one sample stored at -20°C for subsequent plasma leptin analyses. Plasma leptin concentration was determined by using a commercial radioimmunoassay ^{125}I kit (Linco Research, Inc., St. Charles, MO, USA), following the procedures reported by Pelleymounter et al. (1995). The second blood sample was immediately used for lactate determination by using a colorimetric reagent test (Accutrend; F. Hoffmann-La Roche Ltd., Rotkreuz, Switzerland).

Dietary particle size classification.

The classification of the particle size of the diets was performed by using the *Penn State Particle Size Separator* (**PSPS**; Heinrichs, 1996) and the not accounted/predicted intake ratio was taken into consideration herein, where $n = 19$ (long), 8 (medium), 1.18 mm (small), and bottom (fine) sieves. Values obtained for this classification include 1 =

no classification (null), < 1 = selective intake refusal (negative ratio), and > 1 = preferential intake (positive ratio). Corn silage particle size and WC were also determined by PSPS and had, on average, 9.30 a 11.96, respectively, whereas for other feedstuffs a different set of sieves was used (6.0, 3.25, 2.0, 1.25 mm, and bottom). Average particle size for corn, peanut meal, CSFA, urea, and mineral-vitamin mix was 3.60, 2.40, 1.05, 2.30, and 0.73 mm, respectively.

Ultrasound evaluation.

On d 0, 55, and 103 of the experimental period, all animals enrolled into the experiment were submitted to ultrasound evaluations (Aloka SSD-500V with a 17.2 cm/3.50 MHz convex probe; Hitachi Healthcare Americas, Twinsburg, OH) and evaluations were performed by the same trained technician (DGT Brasil, Presidente Prudente, SP, Brazil). Evaluations were conducted according to procedures described by the Ultrasound Guidelines Council (UGC, 2014) and measurements of the ribeye area (**REA**; cm²), marbling (%), and backfat thickness (**BFT**; mm) were collected on the *Longissimus thoracis* muscle between the 12th and 13th ribs and from the *Biceps femoris* muscle. Additionally, overall REA, marbling, and BFT gains were calculated as delta (Δ ; final measurement – initial measurement) and the Δ was divided by the number of days between experimental measurements (103 d) to represent the daily gain of these parameters (cm² for REA, % for marbling, and mm for BFT of both tissues).

Carcass measurements.

At the end of the experimental period, all animals were slaughtered on d 109 following a waiting period of approximately 16 hours, in a federally inspected commercial packing plant (Frigol, Lençóis Paulista, SP, Brazil). Hot carcasses were separated into two symmetrical sections, weighed to obtain hot carcass weight (**HCW**), and individually identified. Dressing percent (**DP**) was calculated by dividing the HCW

by final BW of the animal on d 108 of the experiment. Per standard industry procedures, initial DP of the animals was estimated in 50% and then it was calculated the amount of carcass gained by the animals during the experimental period (d 0 to 108). Carcass ADG was calculated by dividing the carcass gain and the number of days on feed (108 d), whereas yield gain (**YG**) was calculated by dividing carcass ADG (in kg) and ADG (in kg).

Meat traits evaluations.

Following slaughter, all carcasses were cooled in a cold chamber for 48 h, whereas samples of *L. thoracis* muscle from the left carcasses were collected for further laboratorial analyses. For the colorimetric, weight losses due to cooking, and shear force analysis, 3 pieces of 2.5 cm each were collected proximally to the 12th and 13th ribs. All pieces were individually identified, vaccum-packed, and stored (-20°C) until further laboratorial analysis.

Proximate composition. Meat moisture, CP, EE, and ash content were evaluated in samples collected from *L. thoracis* muscles. Moisture and CP contents were determined according to the methodologies previously described by AOAC (2007; methods 950.46 and 981.10, respectively). Ether extract and ash contents were also determined according to methods 920.39 and 920.153 reported on AOAC (2007).

Colorimetric, pH, weight loss due to cooking, and shear force. Upon analysis, samples were thawed in a refrigerator for 24 hours and exposed to oxygen (**O₂**) for 20 min. Following this procedure, meat pH was determined using a digital device (model HI-99163; Hanna Instruments Brasil, Barueri, SP, Brazil). For colorimetric parameters, the determination of the components L*, a*, and b* were performed according to Abularach et al. (1998). Color was evaluated on the surface of the samples using the CIE

L*, a*, and b* system with a D65 illuminating and 10° as the standard evaluation point. A Minolta CM-2500-D device (Konica Minolta, Osaka, Japan) was used for color determination and calibrated with a blank standard sample. The following color parameters were used: L* is a lightness index (0 = black and 100 = white), a* is the intensity of red color, an index that ranges from green (-) to red (+), and b* is the intensity of yellow color, an index ranging from blue (-) to yellow (+; Houben et al., 2000).

Following color measurement, *L. thoracis* samples were identified, weighed in a high-precision scale and cooked at 170°C until internal temperature reached 71°C, as described by the American Meat Science Association (AMSA, 1995). Then, samples were cooled at room temperature and weighed in order to determine the weight loss due to cooking (final – initial weight; Honikel, 1998). The same samples were subsequently enveloped in a plastic film and placed on the refrigerator (4 - 6°C) for 24 hours. After 24 hours, 6 – 8 cylinders of meat were collected from each sample (1.27 cm diameter each), parallel to the fibers. For shear force determination, the cylinders were sheared in a Warner-Bratzler Shear Force (**WBSF**) device with a 20 cm/min velocity, whereas the shear force of each sample was determined as the average of the 6 – 8 replicates and expressed as kg (Wheeler et al., 1997).

Meat FA profile. A sub-sample (approximately 2.8 g) of the *L. thoracis* muscle was used by adding it to a 50 mL Falcon tube (CRAL, Cotia, SP, Brazil). The extraction procedure followed the methodology described by Folch et al. (1957). Briefly, lipids were extracted by homogeneizing the sample with a 2:1 chloroform:metanol solution (Ultra Turrax; Marconi Equipamentos, Piracicaba, SP, Brazil) and isolated after the addition of a 1.5% NaCl solution. The isolated lipid was methylated and methyl esters were assembled according to the methodology described by Kramer et al. (1997). Fatty acids were quantified by gas chromatography (GC-2010 Plus Capillary GC; Shimadzu

Scientific Instruments Inc., Columbia, MD) using a SP-2560 capilar column (100 m × 0.25 mm of diameter and 0.02 mm thickness; Supelco Inc., Bellefonte, PA). Initial column temperature was 45°C with a progressive heating until temperature reached 175°C, which was kept for 27 min. Then, temperature was increased at a rate of 4°C/min until 215°C, which was kept for 35 minutes. Hydrogen gas was used as the carrier with a 40 cm³/sec flux. Fatty acids were identified using previously known and validated standards (methyl tricosanoate; Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO), quantified by evaluating the retention time of the samples and normalization of the peak area of methyl esters with the Chromquest 5.0 Clarity Lite software (version 2.4.191; DataApex Software, Prague, Czech Republic), whereas all FA were expressed as mg/g of total FA.

Statistical analysis.

For all analyses performed herein, pen was considered the experimental unit. All data were analyzed using the MIXED procedure of SAS (version 9.4; SAS Inst. Inc.; Cary, NC, USA) and the Satterthwaite approximation to determine the denominator df for the test of fixed effects. The model statement used for all analyses contained the fixed effects of treatment. All data, with the exception of DMI and FE, were analyzed using block, animal(pen) and pen(treatment) as random variables. For DMI and FE, block and pen(treatment) were used as random variables. Blood samples and US measurements obtained on d 0 were analyzed for covariates and results obtained on d 55 and 103 were covariately-adjusted. Moreover, DMI (kg and % BW) DMI fluctuation, particle classification, blood, and ultrasound data were analyzed as repeated variables, containing day in the repeated statement, the subject was pen(treatment), and the covariance structure was first-order autoregressive, which provided the best fit for these analyses according to the smallest Akaike Information Criterion and Schwarz Bayesian Criterion.

For the specific mean analysis and comparison, orthogonal contrasts were used to partition specific treatment effects, given that the contrast (1) compared the inclusion of WC: 0WC vs. WC, (2) linear contrast, and (3) quadratic contrast. For all data, means were separated using the LSMEANS, significance was set at $P \leq 0.05$, and tendencies were denoted if $0.05 < P \leq 0.10$.

RESULTS

Intake, performance, and blood profile.

As expected, no treatment effects were observed on initial BW ($P \geq 0.90$), indicating that animals were managed similarly prior to the beginning of the experiment (Table 4). At the end of the experimental period, BW, DMI, and DMI as % of BW did not differ among treatments ($P \geq 0.17$; Table 4). Nonetheless, ADG and FE improved ($P \leq 0.02$) during the adaptation period (d 0 to 15) and overall (d 0 to 108) FE also was improved ($P = 0.03$) when WC was included into the diets, whereas overall ADG was not impacted by the experimental treatments offered herein ($P \geq 0.42$; Table 4). Additionally, removing WC of the diets significantly reduced ($P = 0.03$) DMI fluctuation, but no linear or quadratic effects were observed on this parameter ($P \geq 0.13$; Table 4).

In agreement with the DMI data, no contrast effects were observed for any of the nutrient intakes analyzed herein ($P \geq 0.14$; Table 5). Adding WC in the diets caused a reduction in intakes of C12:0, C16:0, C17:0, C18:0, C18:1 *cis*-9, C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15, C20:0, C20:3 *n*-6, C24:0, saturated and monounsaturated FA, as well as saturated:polyunsaturated FA ratio ($P \leq 0.05$; Table 5). On the other hand, intakes of C16:1 *trans*-9, C18:2 *cis*-9, *cis*-12, C23:0, unsaturated and polyunsaturated FA, as well as saturated:monounsaturated FA ($P \leq 0.01$; Table 5). Additionally, with the exception of C17:0, all FA intakes were linearly impacted by the treatments ($P \leq 0.01$), whereas C14:0, C17:0, C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15, C20:1 *n*-9, C23:0 and C24:0 FA intakes were affected in a quadratic fashion ($P \leq 0.05$; Table 5).

Blood samples collected on d 0 were not significant covariates ($P = 0.31$) for serum lactate concentrations and did not differ among treatments ($P = 0.67$; 5.55, 6.51, 5.15, and 5.38 mMol/L for 15WC, 10WC, 5WC, and 0WC, respectively; SEM = 0.872). No significant treatment effects were observed on serum lactate concentrations,

regardless of whether the data were analyzed as repeated ($P \geq 0.72$) or as orthogonal contrasts ($P \geq 0.38$; 4.19, 3.55, 3.54, and 3.88 mMol/L for 15WC, 10WC, 5WC, and 0WC, respectively; SEM = 0.506). Nonetheless, a day effect was observed for serum lactate ($P = 0.02$), as concentrations on d 103 were greater than values on d 55 (3.36 vs. 4.29 mMol/L, respectively).

Conversely, leptin concentrations on d 0 were significant covariates ($P \leq 0.03$) and also did not differ among treatments ($P = 0.37$; 0.74, 0.69, 0.75, and 0.57 ng/mL for 15WC, 10WC, 5WC, and 0WC, respectively; SEM = 0.083). A treatment $\times$ day interaction was detected on serum concentration of leptin ($P < 0.01$; Figure 1). On d 103 of the study, 10WC fed animals had a greater serum leptin concentration compared with all other treatments ($P < 0.01$) and no further differences were observed among the other treatments ($P \geq 0.36$; Figure 1). Therefore, a quadratic effect was observed on mean leptin concentration ($P = 0.02$), as 10WC bulls had a greater mean serum concentration vs. 15WC and 5WC ($P \leq 0.04$) and tended to have a greater mean serum leptin vs. 0WC ($P = 0.07$; data not shown).

Efficiency of dietary net energy utilization.

From d 0 to 15, both NE_m and NE_g increased by adding WC in the experimental diets ($P < 0.01$; Table 6), but no further differences were observed in the other periods and/or when the entire experimental period was evaluated (d 0 to 108; $P \geq 0.12$; Table 6). Nonetheless, the same effect (0WC vs. WC) was detected on the observed:expected ratio of NE_m and NE_g from d 0 to 15 and from d 56 to 108 ($P \leq 0.01$; Table 6), in a manner that adding WC improved and decreased these ratios from d 0 to 15 and from d 56 to 108, respectively. Additionally, observed:expected ratio of NE_m and NE_g linearly increased as WC inclusion in the diets increased ($P \leq 0.02$; Table 6).

Dietary selectivity index.

Treatment $\times$ diet interactions were significant for long, medium, and fine particles ($P \leq 0.03$), whereas the same interaction tended to be observed for small particles ($P = 0.07$; Table 7 and Figure 2). Animals fed 15WC consumed a reduced amount of long particles in the period which the finishing diet (from d 56 to 108) was offered vs. 0WC, 5WC, and 10WC, but also a reduced amount of medium-sized particles from when both the growing and finishing diets were fed when compared with other treatments ($P \leq 0.03$; Figures 2-A and 2-B). Conversely, intake of fine particles was greater for 15WC vs. 5WC and 0WC during the feeding of the growing and finishing diets ($P < 0.01$), but also greater vs. 10WC when the finishing diet was fed ($P < 0.01$; Figure 2-C). Additionally, 10WC had a greater intake of fine particles vs. 0WC during the growing and finishing diets and 5WC also had a greater intake of these particles vs. 0WC during the finishing diet ($P < 0.01$; Figure 2-C).

Additional treatment effects were observed for all particle sizes ($P \leq 0.03$) evaluated herein (Table 7), as well as linear and quadratic effects in the orthogonal contrast analysis. Adding WC linearly decreased intake of long- and medium-sized particles ($P \leq 0.05$), whereas the opposite was observed for fine particles ($P = 0.02$; Table 7). The quadratic effect observed herein for small particles is related to the reduced intake on 5WC and greater intake on 15WC ($P = 0.05$; Table 7).

Ultrasound measurements and carcass characteristics.

Values obtained on d 0 of ultrasound measurements were significant covariates ($P < 0.01$), but did not differ among treatments ($P \geq 0.41$; Table 8). No significant effects were observed for REA, *L. thoracis* and *B. femoris* BFT, regardless of which parameter has been evaluated ($P \geq 0.16$). The only exception to that is the linear effect on *B. femoris*

BFT evaluated on d 55, which decreased as WC content of the diet also increased ($P = 0.04$; Table 8). Similarly, animals fed 0WC had a greater marbling content vs. WC on d 55 and 103 of the study ($P \leq 0.01$), as well as a greater delta (final – initial marbling) score ($P = 0.02$; Table 8). A linear effect was also detected for the aforementioned variables, in a manner that marbling decreased as WC content of the diet increased ($P = 0.01$; Table 8).

Lastly, no contrast effects were observed for HCW ($P \geq 0.48$), DP ($P \geq 0.14$), carcass ADG ($P \geq 0.40$), or YG ($P \geq 0.31$; Table 8).

Meat traits and FA profile.

No treatment effects were observed on meat pH ($P \geq 0.37$), cooking loss ($P \geq 0.18$), and WBSF ($P \geq 0.41$; Table 9). For the chemical composition, a linear effect was observed on ash content ($P = 0.04$), but no further differences were detected ($P \geq 0.13$; Table 9). Similarly, a* index tended to be reduced by including WC in the diets ($P = 0.08$) and no further differences were observed for L* and b*index ($P \geq 0.13$; Table 9).

As expected, several meat FA were impacted by the different inclusion levels of WC and CSFA (Table 10). Inclusion of WC in the diets reduced the amount of C18:2 *cis*-7, *trans*-9 CLA ($P = 0.03$), C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 ($P < 0.001$), C22:2 ($P < 0.001$), and n-3 PUFA ($P = 0.04$; Table 10). Moreover, as WC level in the diet increased, meat C16:1 *trans*-9 ($P = 0.01$), C18:2 *cis*-7, *trans*-9 CLA ($P = 0.04$), and monounsaturated FA ($P = 0.04$) content decreased, whereas C18:1 *cis*-9 tended to decrease ($P = 0.09$) and C18:0 ($P = 0.05$) and saturated FA ($P = 0.03$) increased as WC content of the diet increased (Table 10). Additional quadratic effects were observed for meat levels of C14:0 ($P = 0.05$), C16:0 ($P = 0.01$), C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 ($P = 0.01$), and saturated FA ($P = 0.02$; Table 10). Animals fed 15WC had greater C14:0, C16:0, and saturated FA, meanwhile 0WC cohorts had greater meat C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15 (Table 10).

DISCUSSION

The main objective of the present experiment was to evaluate the effects of different levels of WC and CSFA on feedlot performance, nutrient intake, serum concentrations of hormone and metabolites involved in lipid metabolism, as well as carcass and meat characteristics of *Bos indicus* bulls offered a high-concentrate diet during the finishing phase. This goal arised from the hypothesis that the association of a feedstuff with physical lipid protection (WC) and another with chemical lipid barrier (CSFA) against rumen biohydrogenation (Cappellozza et al., 2020) would allow a greater increase in dietary EE content, without impairments on rumen metabolism and microorganism population, which, in turn, would benefit performance and carcass traits of feedlot animals during the finishing phase. Moreover, the FA profile of these feedstuffs, when added in different dietary levels, would have a positive effect on marbling and backfat thickness, improving customer eating experience and meat acceptability (Westerling and Hedrick, 1979). Therefore, based on this rationale, diets were formulated to be isocaloric, isofiber, isolipidic, and isonitrogenous (Table 3), taking into account the high-quality nutrient supply of WC, including NDF, CP, and EE (Pires et al., 1997; Mena et al., 2004; Cranston et al., 2006), and the great amount of EE from the CSFA source. This experimental design allowed the direct comparison on how the inclusion of these lipid feedstuffs (WC and CSFA) would impact performance and carcass traits of feedlot *Bos indicus* beef cattle. It is noteworthy mentioning that one might question the lack of an experimental group containing only WC as the sole lipid source, but the explanation for this includes (1) possible negative effects of a greater dietary WC inclusion (> 15% DM) on performance and carcass traits have been reported by others (Zinn., 1995; Cranston et al., 2006; Gouvêa et al., 2020), (2) the WC levels used herein

are representative of the current nutritional practices in Brazilian feedlots (Pinto and Millen, 2019), and (3) to the best of our knowledge, no other research evaluated different levels of both lipid sources in the same experiment (Carvalho et al., 2020; Costa et al., 2020) and further studies are warranted.

The lack of differences on DMI, nutrient intake, final BW, ADG, and carcass traits might be explained by the similar nutritional content of the experimental diets. Recently, Carvalho et al. (2020) demonstrated that CSFA inclusion into a high-concentrate diet containing cottonseed byproducts (WC and cottonseed meal) yielded similar final BW and ADG, improved FE, and reduced DMI when compared with diets that did not contain CSFA. In other study, Costa et al. (2020) did not report differences on feedlot performance of *Bos indicus* animals offered an isocaloric, isonitrogenous, and isolipidic high-concentrate diet containing a combination of WC and corn germ, CSFA alone, or a three-way combination of WC, corn germ, and CSFA as lipid feedstuffs. An increased linear inclusion of WC has linearly reduced DMI in beef cattle, without impairments on feedlot performance (ADG and FE), but positive effects were observed on carcass traits when WC inclusion varied from 2.2 to 10.3% DM (Gôuvea et al., 2020). The differences between previous and the present study might be attributed to the FA profile of the supplements used (Nascimento et al., 2020) and the EE content of the diets, so that greater dietary EE levels lead to a greater reduction in DMI (Carvalho et al., 2020; Gôuvea et al., 2020), whereas the lack of differences herein might be attributed to the fact that diets were formulated to contain similar levels of energy, protein, and fat. The fact that FE was reduced in 0WC was surprising, contrary than previous studies reporting either an improvement (Carvalho et al., 2020; Nascimento et al., 2020) or similar (Costa et al., 2020) FE vs. non-CSFA-supplemented cohorts. Although formulated to be isofiber, peNDF content of 0WC was 1 to 5% lower than the other treatments (Table 2).

Additionally, not only the amount, but also the type of fiber was different (corn silage vs. WC) between treatments, which might be able to impact rumen fermentation parameters and nutrient utilization. Supporting this rationale, the linter present in WC has a high ruminal fermentation rate that consequently improves DM degradation (Bo et al., 2012) and nutrient utilization when compared to corn silage. Recently, de Souza et al. (2018) reported differences on nutrient intake and performance of dairy cows receiving either WC or soybean hulls in the diet. More specifically, WC inclusion increased NDF, total FA, and NE for lactation intake in isolipidic and roughly isofiber diets, without reported differences on overall DMI.

The estimated FA intake observed herein reflects the DMI and nutrient composition of the experimental diets, whereas ruminal biohydrogenation was not evaluated herein. Animals that did not receive WC had a greater C16:0, C18:0, C18:1 *cis*-9, C18:3 *cis*-9, *cis*-12, *cis*-15, total SFA, and MUFA intake, as well as greater SFA:PUFA ratio and the opposite was observed when WC was included into the diets for C18:2 *cis*-9, *cis*-12 and overall PUFA. In dairy cattle, the effects of C18:0 and C18:1 *cis*-9 on metabolism and productive responses of dairy cattle receiving soybean hulls or whole cottonseed have been reported by de Souza et al. (2018). Overall, supplementing C16:0 + C18:0 FA improved DMI and milk fat and protein content vs. a mixture of C16:0 and C18:1 *cis*-9 FA, whereas opposite results were observed on nutrient digestibility and BW changes. In beef cattle, few studies have evaluated the effects of these specific FA on metabolism and performance of the herd (Costa et al., 2020; Nascimento et al., 2020). Increasing the intake of C16:0 and C18:1 *cis*-9 FA improved FE, HCW, and deposition efficiency of energy of feedlot cattle when compared with animals receiving a soybean oil-based CSFA, without differences on DM and overall nutrient intake (Nascimento et al., 2020).

Dry matter intake fluctuation might be used as an important parameter evaluating the profitability of the feedlot, given that the costs associated with feedstuffs are the greatest factor influencing the profitability of a commercial beef cattle operation, accounting for over 63% of the variation in total annual costs (Miller et al., 2001). Moreover, reducing DMI fluctuation will likely improve the predictability of feed intake by feedlot animals, resulting in reduced amount of feed wasted in the bunk, positively affecting the profitability of the operation, and finally, likely preventing the occurrence of digestive disorders. As reported by others (Owens et al., 1998; Krehbiel, 2014), a greater variation in total DMI is commonly associated with low ruminal pH of cattle fed high-grain diets. To the best of our knowledge, this is the first research study reporting a reduced DMI fluctuation in feedlot animals receiving CSFA, whereas others (Gibb et al., 2001; Teixeira et al., 2020) have demonstrated a reduced fluctuation in DMI when an ionophore, such as sodium monensin, was included into high-concentrate feedlot diets.

Following this rationale, the evaluation of a feed selectivity index might be useful in predicting rumen health and potential disorders, such as subacute rumen acidosis (**SARA**; Keunen et al., 2002; Maulfair et al., 2013). In dairy cattle, Kmicikewycz and Heinrichs (2015) reported that cows are able to change their particle size preference depending on the rumen health. More specifically, dairy cows consuming a short corn silage TMR changed their preference to longer forage particles during a SARA challenge. Cows consuming long corn silage-based diets, however, selected against longer particles during the same challenge. Changes were also observed in the present study, so that a greater WC content of the diet reduced the preference for long and medium particles, meanwhile the preference for fine particles increased. To the best of our knowledge, this is one of the first experiment evaluating potential dietary interactions with feed sorting and preference in beef cattle offered a high-energy and high-lipid feedlot diet, whereas

several researchers evaluated this matter in dairy cattle offered a TMR (Kmicikewycz and Heinrichs, 2015; Miller-Cushon and DeVries, 2017). The reason for these results is unknown and could be related to potential differences in rumen metabolism and health which, unfortunately, were not evaluated herein and warrant further investigation.

Circulating leptin concentration is regulated by body fat content, nutrient intake, carcass composition, and circulating insulin (Houseknecht et al., 1998; Geary et al., 2003). In agreement, Cappellozza et al. (2014) demonstrated that beef heifers with greater ADG also had greater plasma insulin leptin concentrations when compared with unsupplemented beef heifers, which, in turn, had a reduced ADG. In the present experiment, 10WC bulls had a greater serum leptin concentration vs. other treatments on d 103 of the study (Figure 1). These results were unexpected, considering the overall similar performance and nutrient profile of the diets. Nonetheless, 10WC animals had, numerically, a greater ADG and DMI in the last half of the experiment (d 56 to 108), which might explain the observed leptin results. Besides a greater leptin concentration, carcass traits and final carcass measurements, such as REA and BFT of *L. thoracis* and *B. femoris*, did not differ among treatments (Table 8). Nonetheless, removing WC from the diets improved marbling in measurements obtained on d 55 and 103 of the study. In a previous research from the same group (Costa et al., 2020), marbling was not affected by supplementing different sources of FA to feedlot *B. indicus* animals.

In ruminants, marbling is highly affected by the diets offered to the herd, so that ingredients that increase propionate production have greater glycogenic and insulinogenic capacities, increasing intramuscular fat deposition (Gilbert et al., 2003). However, this hypothesis might be not applicable in the present experiment, as starch intake was similar between treatments. Nonetheless, it is important to mention that many of the genes that control adipocyte differentiation in cattle is regulated by FA circulating in plasma (Choi

et al., 2015). Oleic acid has been recognized as potent in stimulating lipid synthesis from glucose in intramuscular tissue and lipogenesis from acetate (Smith and Johnson, 2016). Hence, a tendency was observed for meat concentration of C18:1 *cis*-9 FA to increase as WC content of the diet decreased. In a previous study, Costa et al. (2020) reported that genes involved in lipid metabolism were downregulated as C16:0 and C18:1 *cis*-9 FA also decreased. As an example, peroxisome proliferator-activated receptor- γ has been a gene of interest when looking at lipid metabolism and its potential effects on meat characteristics, such as marbling (Lim et al., 2011), whereas it has been reported that SFA vs. UFA are more potent inducers of PPAR- γ (Bionaz et al., 2012). Another key enzyme involved in lipid metabolism is stearoyl CoA-desaturase (**SCD**), in a manner that its greater expression has been associated with adipocytes hypertrophy (Martin et al., 1999). Increased C18:1 *cis*-9 FA intake and ruminal FA biohydrogenation with subsequent CLA formation result in a down regulation of tissue SCD (Keating et al., 2005; Smith and Johnson, 2016). In the present experiment, as rumen FA biohydrogenation was not measured, it could be speculated that although a greater C18:1 *cis*-9 FA intake was observed in 0WC, rumen biohydrogenation likely played a role in forming intermediates CLA isomers, inhibiting enzymes involved in lipid metabolism and marbling.

In the present experiment, no treatment effects were observed for carcass pH, chemical composition, and colorimetric parameters (Table 9). In agreement with our results, others (Gilbert et al., 2003; Costa et al., 2020; Nascimento et al., 2020) also did not report effects of lipid sources and FA profile of supplements on cooking loss, carcass chemical composition, and WBSF. Conversely, Nascimento et al. (2020) observed treatments effects on b^* index, in a manner that greater values were observed in *B. indicus* animals offered the same CSFA source as used herein vs. cohorts fed a CSFA source

based on soybean oil. It is reported that steaks with WBSF values greater than 4.6 kg/cm² are hard (Belew et al., 2003) and our results suggest that animals, regardless of treatment, had WBSF values closer to this threshold. The fact that *B. indicus* cattle was used herein might explain the lack of treatment effects on pH and shear force. Sant'Anna et al. (2019) also reported greater pH values in Nellore carcass, which might be related to the temperament and consequently, the stress-related responses elicited by this trait (Voisinet et al., 1997; Fordyce et al., 1988). Based on these, it is logical to speculate that other factors beyond nutrition, such as cattle temperament, breed, castration status, and age, might play a role in consistently and permanently affecting carcass characteristics of *B. indicus* cattle, whereas the specific effects of CSFA, if any, are yet to be determined.

One of the major goals in ruminant nutrition is to alter the FA profile of edible products, such as beef and milk, in order to benefit the human population that consumes such products (Scollan et al., 2006; Hess et al., 2008; Jenkins et al., 2008). A feasible alternative to achieve this goal would be to feed CSFA, reducing the amount of FA being hydrogenated in the rumen (Cappellozza et al., 2020) and increasing the amount of FA reaching the small intestine for further absorption. Following the design of the experimental diets and the FA intake data, it would be speculated dramatic differences in meat FA profile, such as alterations in hypercholesterolemic FA (C14:0 and C16:0; Farfan, 1996). Indeed, feeding CSFA without WC increased meat concentration of C18:2 *cis*-7, *trans*-9, C18:3, and n-3 FA, and reduced SFA:PUFA ratio. On the other hand, 10WC-fed animals had lower meat C14:0 and C16:0, but greater C20:1, C20:3, and total MUFA. From a human nutrition and health standpoint, a greater supply of C14:0, C16:0, and other SFA to ruminants would not be desirable, as these are widely known as hypercholesterolemic FA (Scollan et al., 2006; Oliveira et al., 2011). More specifically, myristic FA has a 4-fold greater potential to cause an increase in blood cholesterol when

compared with palmitic FA (Oliveira et al., 2012). Nonetheless, ruminants have the ability to modify palmitic FA through elongation and desaturation of the FA chain, giving rise to stearic and oleic FA, respectively (Archibeque et al., 2005; Scholljegerdes et al., 2007), which might explain some of the FA differences observed herein. On the other hand, supplementation with CSFA of a mixture of palm, soybean, and cottonseed oil yielded greater meat total PUFA when compared with meat obtained from animals receiving other treatments, which are part of the hypocholesterolemic FA class and act on metabolism by reducing blood concentrations of low-density lipoproteins and increasing high-density lipoproteins, which are known to prevent the occurrence of cardiovascular disease (Molketin, 2000).

In summary, feeding WC increased FE during feedlot, whereas CSFA supplementation reduced DMI fluctuation and improved marbling in *Bos indicus* beef cattle offered isonitrogenous, isolipidic, and isocaloric high-concentrate diets. However, it remains to be evaluated possible interactions, if any, among fiber source and type on productive and metabolic responses of *Bos indicus* cattle offered a finishing diet.

REFERENCES

- Abularach, M. L. S., C. E. Rocha, and P. E. Felício. 1998. Características de qualidade do contrafilé (m. L. dorsi) de touros jovens da raça Nelore. Food Sci. Technol. 18:205-210. doi: 10.1590/S0101-206119980002000012
- Allen, M. S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. J. Dairy Sci. 83:1598-1624. doi:10.3168/jds.S0022-0302(00)75030-2
- Allen, M. S., B. J. Bradford, and M. Oba. 2009. Board invited review: the hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. **J. Anim. Sci.** 87:3317–3334. doi:10.2527/jas.2009-1779.

AMSA. American Meat Science Association. 1995. Research guidelines for cookery, sensory evaluation, and instrumental tenderness measurements of fresh meat. AMSA & National Livestock and Meat Board, Chicago.

Andrade, E. N. D., Neto, A. P., Roça, R. D. O., Faria, M. D., Resende, F. D., Siqueira, G. R., & Pinheiro, R. S. B. (2014). Beef quality of young Angus× Nellore cattle supplemented with rumen-protected lipids during rearing and fattening periods. *Meat science*, 98(4), 591-598. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.05.028>

AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC.

AOAC. 2007. Official methods of analysis. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

AOCS. 2009. Official methods and recommended practices. 7th ed. American Oil Chemists' Society, Urbana, IL

Apaoblaza, A., Strobel, P., Ramírez-Reveco, A., Jeréz-Timaure, N., Monti, G., Gallo, C., 2017. Effect of season, supplementation and fasting on glycolytic potential and activity of AMP-activated protein kinase, glycogen phosphorylase and glycogen debranching enzyme in grass-fed steers as determined in Longissimus lumborum muscle. *Livestock Science* 202, 101-108. doi: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.05.028>

Aschenbach, J. R., Zebeli, Q., Patra, A. K., Greco, G., Amasheh, S., & Penner, G. B. (2019). Symposium review: The importance of the ruminal epithelial barrier for a healthy and productive cow. *Journal of dairy science*, 102(2), 1866-1882. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15243>

Barducci, R. S., M. N. Sarti, D. D. Millen, T. C. Putarov, F. A. Ribeiro, M. C. S. Franzói, C. F. Costa, C. L. Martins, and M. B. Arrigoni. 2015. Ácidos graxos no desempenho e nas respostas imunológicas de bovinos Nelore confinados. *Pesq. Agropec. Bras.* 50:499-509. doi: 10.1590/S0100-204X2015000600009

Belew JB, Brooks JC, McKenna DR, Savell JW. Warner-Bratzler shear evaluations of 40 bovine muscles. *Meat Sci.* 2003 Aug;64(4):507-12. doi: 10.1016/S0309-1740(02)00242-5.

Bevans, D. W., K. A. Beauchemin, K. S. SchwartzkopfGenswein, J. J. McKinnon, and T. A. McAllister. 2005. Effect of rapid or gradual grain adaptation on subacute acidosis and feed intake by feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 83:1116–1132. doi:10.2527/2005.8351116x.

Bigham ML, McManus WR (1975) Whole wheat grain feeding of lambs.Effects of roughage and wheat grain mixtures. *Australian Journal of Agricultural Research*26, 1053–1062. doi:10.1071/AR9751053

Brink DR, Lowry SR, Stock RA, Parrott JC (1990) Severity of liver abscesses and efficiency of feed utilization of feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 68,1201–1207. doi:10.2527/1990.6851201x

Cappellozza, B. I., Ferraretto, L. F., Vedovatto, M., & Moriel, P. (2020). Different profiles of fatty acids in Ca soaps on dissociation and modification by biohydrogenation in vitro. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 49. <https://doi.org/10.37496/rbz4920200172>

Carvalho, M. A., Cappellozza, B. I., Silva, B., Castro, T. S., Burim, M. R., & Cervieri, R. C. 2020. Supplementation with calcium salts of cottonseed oil improves performance of *Bos indicus* animals consuming finishing diets. *Translational Animal Science*. DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/skaa382>

Choi, S. H., S. K. Park, B. J. Johnson, K. Y. Chung, C. W. Choi, K. H. Kim, W. Y. Kim, and S. B. Smith. 2015. AMPK α , C/EBP β , CPT1 β , SCAGR43, PPAR γ , and SCD Gene expression in single-and co-cultured bovine satellite cells and intramuscular preadipocytes treated with palmitic, stearic, oleic, and linoleic acid. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 28:411-419. doi: 10.5713/ajas.14.0598

Cooke, R. F., D. W. Bohnert, P. Moriel, B. W. Hess, and R. R. Mills. 2011. Effects of polyunsaturated fatty acid supplementation on ruminal in situ forage degradability, performance, and physiological responses of feeder cattle. *J. Anim. Sci.* 89:3677–3689. doi:10.2527/jas.2010-3515.

Costa, C., Rizzieri, R., Melo, G., Müller, L., Estevan, D., Pacheco., et al. (2020). Effects of fatty acid profile of supplements on intake, performance, carcass traits, meat characteristics, and meat sensorial analysis of feedlot Bos indicus bulls offered a high-concentrate diet. *Translational Animal Science*, 4(3), txaa142. <https://doi.org/10.1093/tas/txaa14>

Costa, S. F., Pereira, M. N., Melo, L. Q., Resende Júnior, J. C., e Chaves, M. L. 2008. Alterações morfológicas induzidas por butirato, propionato e lactato sobre a mucosa ruminal e a epiderme de bezerras – I Aspectos histológicos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 60(1):1-9.

Cranston, J.J., Rivera, J.D., Galyean, M.L., Brashears, M.M., Brooks, J.C., Markham, C.E., McBeth, L.J., Krehbiel, C.R., 2006. Effects of feeding whole cottonseed and cottonseed products on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 84, 2186–2199. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-669>.

da Cruz, W. F. G., J. P. Schoonmaker, F. D. Resende, G. R. Siqueira, L. M. Rodrigues, G. D. R. Zamudio, and M. M. Ladeira. 2019. Effects of maternal protein supplementation

and inclusion of rumen protected fat in the finishing diet on nutrient digestibility and expression. of intestinal genes in Nellore steers. *Anim. Sci. J.* 00:1-12. doi: 10.1111/asj.13273

de Souza, J., C. L. Preseault, and A. L. Lock. 2016. Short communication: Lactational responses to palmitic acid supplementation when replacing soyhulls or dry ground corn. *J. Dairy Sci.* 99:1-6. doi: 10.3168/jds.2015-10367

Dilorenzo, N., Dahlen, C. R., Diez-Gonzales, F., Lamb, G. C., Larson, J. E., and Dicostanzo, A. 2008. Effects of feeding polyclonal antibody preparations on rumen fermentation patterns, performance, and carcass characteristics of feedlot steers. *Journal of Animal Science* 86(11): 3023-3032

Duckett SK, Pratt SL and Pavan E 2009. Corn oil or corn grain supplementation to stters grazing endophyte-free tall fescue. II. Effects on subcutaneous fatty acid content and lipogenic gene expression. **J. Anim. Sci.** 87, 1120–1128. DOI: 10.2527/jas.2008-1420

Ewaschuk JB, Naylor JM, Zello GA. D-lactate in human and ruminant metabolism. *J Nutr.* 2005 Jul;135(7):1619-25. doi: 10.1093/jn/135.7.1619.

FIORENTINI, G.; CARVALHO, I. P. C.; MESSANA, J. D.; CASTAGNINO, P. S.; BERNDT, A.; CANESIN, R. C.; FRIGHETTO, R. T. S.; BERCHIELLI, T. T. Effect of lipid sources with different fatty acid profiles on the intake, performance, and methane emissions of feedlot Nellore steers. **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 4, p. 1613–1620, 2014. doi: 10.2527/jas.2013-6868

Folch, J., M. Lees, and G. H. Sloane Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226:497–509 jam2016-0794.

Foote AP, Hales KE, Kuehn LA, Keisler DH, King DA, Shackelford SD, Wheeler TL, Freetly HC. Relationship of leptin concentrations with feed intake, growth, and efficiency in finishing beef steers. *J Anim Sci*. 2015 Sep;93(9):4401-7. doi: 10.2527/jas.2015-9339.

Foote AP, Tait RG Jr, Keisler DH, Hales KE, Freetly HC. Leptin concentrations in finishing beef steers and heifers and their association with dry matter intake, average daily gain, feed efficiency, and body composition. *Domest Anim Endocrinol*. 2016 Apr;55:136-41. doi: 10.1016/j.domaniend.2015.12.007. Epub 2016 Jan 6.

Fox, D. G., and L. O. Tedeschi. 2002. Application of physically effective fiber in diets for feedlot cattle. In the Plains Nutrition Conference, San Antonio, TX. Texas A&M University AgriLife Research and Extension Center, Amarillo, TX. p. 67–81.

Gallo, C., Huertas, S., 2016. Main animal welfare problems in ruminant livestock during preslaughter operations: a South American view. *Animal* 10, 357-364. doi: <https://doi.org/10.1017/S1751731115001597>

Galyean ML, Malcolm KJ and Duff GC 1992. Performance of feedlot steers fed diets containing laidlomycin propionate or monensin plus tylosin, and effects of laidlomycin propionate concentration on intake patterns and ruminal fermentation in beef steers during adaptation to a high-concentrate diet. **Journal of Animal Science** 70, 2950–2958. DOI: 10.2527/1992.70102950x

Galyean, M.L., Defoor, P.J., 2003. Effects of roughage source and level on intake by feedlot cattle. *J. Anim Sci*. 81, E8–16 /2003.8114_suppl_2E8x.

Gesteira SM, Oliveira RL, Trajano JdS, Ribeiro CVDM, Costa EIdS, et al. (2019) Correction: Fatty acid profile, physicochemical composition and sensorial attributes of salted and sun-dried meat from young Nellore bulls supplemented with

condensed tannins. PLOS ONE 14(7): e0219581.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219581>

Gillis, M. H., S. K. Duckett, J. R. Sackmann, C. E. Realini, D. H. Keisler, and T. D. Pringle. 2004. 3 J. Anim. Sci. DOI: 82:851-859. doi: 10.2527/2004.823851x

Gómez, J., Netto, A.S., Antonelo, D., Silva, J., Sene, G., Silva, H., Dias, N., Leme, P., Silva, S., 2019. Effects of immunocastration on the performance and meat quality traits of feedlot-finished *Bos indicus* (Nellore) cattle. *Animal Production Science* 59, 183-190.

GOUVÊA, V. N. et al (2020). Effects of soybean oil or various levels of whole cottonseed on growth performance, carcass traits, and meat quality of finishing bulls. **Livestock Science**, 103934. doi:10.1016/j.livsci.2020.103934

Gruber SL, Tatum JD, Scanga JA, Chapman PL, Smith GC, Belk KE. Effects of postmortem aging and USDA quality grade on Warner-Bratzler shear force values of seventeen individual beef muscles. *J Anim Sci*. 2006 Dec;84(12):3387-96. doi: 10.2527/jas.2006-194.

Hales, K. E., Foote, A. P., Brown-Brandl, T. M., & Freetly, H. C. (2017). The effects of feeding increasing concentrations of corn oil on energy metabolism and nutrient balance in finishing beef steers. *Journal of Animal Science*, 95(2), 939-948
<https://doi.org/10.2527/jas.2016.0902>.

Heinrichs, J. 2013. The penn state particle separator. <https://extension.psu.edu/penn-state-particle-separator>. Accessed Sep. 2020.

Hess, B. W., G. E. Moss, and D. C. Rule. 2008. A decade of developments in the area of fat supplementation research with beef cattle and sheep. *J. Anim. Sci*. 86(14 Suppl):E188–E204. doi:10.2527/jas.2007-0546.

- Honikel, K. O. 1998. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Sci.* 49:447–457. doi:10.1016/s0309-1740(98)00034-5
- Houben, J. H., A. van Dijk, G. Eikelenboom, and A. H. HovingBolink. 2000. Effect of dietary vitamin E supplementation, fat level and packaging on colour stability and lipid oxidation in minced beef. *Meat Sci.* 55:331–336. doi:10.1016/ s0309-1740(99)00161-8.
- Howe, P., Meyer, B., Record, S., & Baghurst, K. (2006). *Dietary intake of long-chain ω -3 polyunsaturated fatty acids: contribution of meat sources.* *Nutrition*, 22(1), 47–53. doi:10.1016/j.nut.2005.05.009
- Huang, Y., Yanagita, T., Nagao, K., & Koba, K. (2008). Biological effects of conjugated linoleic acid. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*, 170, 825.
- Jenkins, T. C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 76:3851–3863. doi:10.3168/jds.S0022-0302(93)77727-9
- KRAUSE, K.M.; OETZEL, G.R. Understanding and preventing subacuteruminal acidosis in dairy herds: review. **Animal Feed Science and Technology**, v.126, p.215-236, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.08.004>.
- KREHBIEL, C. R.; CRANSTON, J. J.; MCCURDY, M. P. An upper limit for caloric density of finishing diets. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. suppl_13, p. E34-E49, 2006. https://doi.org/10.2527/2006.8413_supplE34x.
- LADEIRA, M. M.; SANTAROSA, L. C.; CHIZZOTTI, M.L.; RAMOS, E. M.; MACHADO NETO, O. R.; OLIVEIRA, D. M.; CARVALHO, J. R. R.; LOPES, L. S.; RIBEIRO, J. S. Fatty acid profile, color and lipid oxidation of meat from young bulls fed ground soybean or rumen protected fat with or without monensin. **Meat Science**, v. 96, n. 1, p. 597–605, 2014.

Ladeira, M., Schoonmaker, J., Swanson, K., Duckett, S., Gionbelli, M., Rodrigues, L., & Teixeira, P. (2018). Review: Nutrigenomics of marbling and fatty acid profile in ruminant meat. *Animal*, 12(S2), S282-S294. doi:10.1017/S1751731118001933

Llonch, L., L. Castillejos, and A. Ferret. 2020. Increasing the content of physically effective fiber in high-concentrate diets fed to beef heifers affects intake, sorting behavior, time spent ruminating, and rumen pH. *J. Anim. Sci.* 98:1–9. doi:10.1093/jas/skaa192

Mangrum, K. S., G. Tuttle, S. K. Duckett, G. S. Sell, C. R. Krehbiel, and N. M. Long. 2016. The effect of supplementing rumen undegradable unsaturated fatty acids on marbling in early-weaned steers. *J. Anim. Sci.* 94:833–844. doi:10.2527/jas.2015-9809.

Marcos A A Carvalho, Bruno I Cappellozza, Bruna Silva, Thais S Castro, Marcos Renato Burim, Rafael C Cervieri, Supplementation with calcium salts of cottonseed oil improves performance of *Bos indicus* animals consuming finishing diets, ***Translational Animal Science***, Volume 4, Issue 2, April 2020, Pages 967–973, <https://doi.org/10.1093/tas/txaa080>

Marques, R. S., R. F. Cooke, C. L. Francisco, and D. W. Bohnert. 2012. Effects of twenty-four hour transport or twenty-four hour feed and water deprivation on physiologic and performance responses of feeder cattle. *J. Anim. Sci.* 90:5040–5046. doi:10.2527/jas.2012-5425.

Marques, R. S., D. W. Bohnert, O. A. de Sousa, A. P. Brandão, T. F. Schumacher, K. M. Schubach, M. P. Vilela, B. Rett, and R. F. Cooke. 2019. Impact of 24-h feed, water, or feed and water deprivation on feed intake, metabolic, and inflammatory responses in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 97:398–406. doi:10.1093/jas/sky397.

Mertens, D. R. 2002. Measuring fiber and its effectiveness in ruminant diets. In *Proceedings of the Plains Nutrition Council Spring Meeting*, San Antonio, TX, 25–26

April 2000. Texas A&M Research and Extension Center Publication No. AREC 01-20.
p. 40–66

Myers Jr, M. G., Leibel, R. L., Seeley, R. J., & Schwartz, M. W. (2010). Obesity and leptin resistance: distinguishing cause from effect. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 21(11), 643-651. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2010.08.002>

Nagaraja, T. G., & Titgemeyer, E. C. (2007). Ruminant acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. *Journal of dairy science*, 90, E17-E38. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-478>

Nascimento, F. A. et al. Calcium salts of fatty acids with varying fatty acid profiles in diets of feedlot-finished Bos indicus bulls: impacts on intake, digestibility, performance, and carcass and meat characteristics. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 12, p. skaa382, 2020.

NASEM. 2016. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. Nutrient requirements of beef cattle model. 8th rev. ed. National Academic Press, Washington, DC. <https://doi.org/10.17226/19014>.

Piantoni, P., A. L. Lock, and M. S. Allen. 2013. Palmitic acid increased yields of milk and milk fat and nutrient digestibility across production level of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 96:7143-7154. doi: 10.3168/jds.2013-6680

PINTO, Ana CJ; MILLEN, Danilo D. Nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists: the 2016 Brazilian survey. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 99, n. 2, p. 392-407, 2018. <https://doi.org/10.1139/cjas-2018-0031>

Resende Júnior JC, Alonso LS, Pereira MN (2006) Effect of the feedinSCAGattern on rumen wall morphology of cows and sheep. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 43, 526–536.

Richardson, E. C., Herd, R. M., Archer, J. A., & Arthur, P. F. (2004). Metabolic differences in Angus steers divergently selected for residual feed intake. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 44(5), 441-452.

Rico, D. E., J. E. Parales, B. A. Corl, A. Lengi, P. Y. Chouinard, and R. Gervais. 2020. Abomasally infused saturated fatty acids with varying chain length differently affect milk production and composition, and alter hepatic and mammary gene expression in lactating cows. *Br. J. Nutr.* 3:1-33. doi: 10.1017/S0007114520000379

ROSA, B. L.; SAMPAIO, A. A. M.; HENRIQUE, W.; OLIVEIRA, E. A.; PIVARO, T. M.; ANDRADE, A. T.; FERNANDES, A. R. M. Performance and carcass characteristics of Nellore young bulls fed different sources of oils, protected or not from rumen degradation. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 42, n. 2, p. 109-116, 2013

Samuelson, K. L., Hubbert, M. E., Galyean, M. L., & Löest, C. A. *Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: The 2015 New Mexico State and Texas Tech University survey*1. *Journal of Animal Science*, 94(6), 2648–2663. 2016. doi:10.2527/jas.2016-0282

SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K. S. et al. Effect of bunk management on feeding behavior, ruminal acidosis and performance of feedlot cattle: A review. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 81, p. 149-158, 2003.

Shingfield, K. J., M. R. F. Lee, D.J. Humphries, N. D. Scollan, V. Toivonen, C. K. Reynolds, and D. E. Beever. 2010. Effect of incremental amounts of fish oil in the diet

on ruminal lipid metabolism in growing steers. *Brit. J. Nutrition*. 104:56-66. doi:10.1017/S0007114510000292

Smith, S. B., and B. J. Johnson. 2016. Marbling: management of cattle to maximize the deposition of intramuscular adipose tissue. *J. Anim. Sci.* 94(Suppl. 5):382. doi:10.2527/

Sukhija, P. S., and D. L. Palmquist. 1990. Dissociation of calcium soaps of long-chain fatty acids in rumen fluid. *J. Dairy Sci.* 73:1784–1787. doi:10.3168/jds. S0022-0302(90)78858-3

Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583–3597. doi:10.3168/jds. S0022-0302(91)78551-2

Vasconcelos, J. T., & Galyean, M. L. (2007). *Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: The 2007 Texas Tech University survey*¹. *Journal of Animal Science*, 85(10), 2772–2781. doi:10.2527/jas.2007-0261

VECHIATO, T.A.F; MASCHIO, W.; BOM, L.C.; LOPES, P.D.; ORTOLANI, E.L. Retrospective study of liver abscesses in beef cattle slaughtered in a Brazilian abattoir. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.48, n.5, p.384-391, 2011.

Wanapat, M., C. Mapato, R. Pilajun, and W. Toburan. 2011. Effects of vegetable oil supplementation on feed intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristic of growing swamp buffaloes. *Livest. Sci.* 135:32-37. doi:10.1016/j.livsci.2010.06.006

Weiss, C. P., W. W. Gentry, C. M. Meredith, B. E. Meyer, N. A. Cole, L. O. Tedeschi, F. T. McCollum, and J. S. Jennings. 2017. Effects of roughage

inclusion and particle size on digestion and ruminal fermentation characteristics of beef steers. *J. Anim. Sci.* 95:1707–1714. doi:10.2527/jas.2016.1330

Westerling, D. B., and H. B. Hedrick. 1979. Fatty acid composition of bovine lipids as influenced by diet, sex and anatomical location and relationship to sensory characteristics. *J. Anim. Sci.* 48:1343–1348. doi:10.2527/jas1979.4861343x

Wheeler, T. L., S. D. Shackelford, and M. Koohmaraire. 1997. Standardizing collection and interpretation of Warner-Bratzler shear force and sensory tenderness data. *Proceedings of the Reciprocal Meat Conference, Savoy*, v. 50, p. 68–77.

WOOD, J. D. et al. Effects of fatty acids on meat quality: a review. **Meat science**, v. 66, n. 1, p. 21-32, 2004. doi:10.1016/S0309-1740(03)00022-6

Wood, J. D., Enser, M., Fisher, A. V., Nute, G. R., Sheard, P. R., Richardson, R. I., Whittington, F. M. (2008). *Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. Meat Science*, 78(4), 343–358. doi:10.1016/j.meatsci.2007.07.019

Xing, T., Gao, F., Tume, R. K., Zhou, G., & Xu, X. (2018). *Stress Effects on Meat Quality: A Mechanistic Perspective. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. doi:10.1111/1541-4337.12417

ZINN, R. A. Characteristics of digestion of linted and lint-free cottonseed in diets for feedlot cattle. **Journal of animal science**, v. 73, n. 5, p. 1246-1250, 1995 <https://doi.org/10.2527/1995.7351246x>.

Zinn, R. A., & Plascencia, A. (1993). *Interaction of whole cottonseed and supplemental fat on digestive function in cattle. Journal of Animal Science*, 71(1), 11–17. doi:10.2527/1993.71111x

Zinn, R. A., Montaña, M., Alvarez, E., & Shen, Y. (1997). *Feeding value of cottonseed meal for feedlot cattle. Journal of Animal Science*, 75(9), 2317. doi:10.2527/1997.7592317x

ZINN, R. A.; GULATI, S. K.; PLASCENCIA, A.; SALINAS, J. Influence of ruminal biohydrogenation on the feeding value of fat in finishing diets for feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 7, p. 1738-1746, 2000.

Zinn, R. A., F. N. Owens, and R. A. Ware. 2002. Flaking corn: Processing mechanics, quality standards, and impacts on energy availability and performance of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 80:1145-1156. doi:10.2527/2002.8051145x

Table 1. Fatty acid (FA) profile of the feedstuffs used in the present experiment.

Fatty acids, % total FA	Corn	Corn silage	Peanut meal	CSFA ¹	WC ¹
C10:0	0.08	0.00	0.09	0.00	0.00
C12:0	0.37	0.22	0.26	1.15	0.00
C14:0	0.33	0.41	0.24	0.96	0.76
C15:0	0.03	0.05	0.02	0.00	0.00
C16:0	15.23	17.81	8.50	22.27	21.12
C16:1 <i>trans</i> -9	0.44	0.23	0.37	1.06	0.51
C17:0	0.12	0.17	0.11	0.00	0.13
C17:1 <i>cis</i> -10	0.04	0.06	0.08	0.00	0.00
C18:0	4.10	5.15	3.19	3.77	2.41
C18:1 <i>cis</i> -9	33.81	31.87	72.73	51.58	15.54
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	42.02	39.87	6.73	16.13	58.72
C18:3 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	1.08	2.17	0.28	0.66	0.19
C20:0	0.66	0.66	1.10	0.20	0.25
C20:1	0.26	0.25	1.86	0.00	0.06
C22:0	0.24	0.37	2.45	0.00	0.00
C22:1	0.00	0.00	0.22	0.00	0.00
C24:0	0.33	0.63	1.60	0.73	0.19
Saturated FA	21.49	25.47	17.56	29.07	24.86
Unsaturated FA	78.38	74.45	82.45	69.44	75.02
Monounsaturated	0.48	0.29	0.67	1.06	0.51
Polyunsaturated	43.66	42.04	7.05	16.79	58.91

¹CSFA = calcium salts of fatty acids; WC = whole cottonseed.

Table 2. Composition [dry matter (**DM**) basis] of the adaptation (**ADAP**), growing (**GRO**), and finishing (**FIN**) diets offered during the present experiment^{1,2}

<i>Item, % DM</i>	<i>ADAP-1</i>		<i>ADAP-2</i>		<i>ADAP-3</i>		<i>GRO</i>				<i>FIN</i>			
	<i>5WC</i>	<i>0WC</i>	<i>5WC</i>	<i>0WC</i>	<i>5WC</i>	<i>0WC</i>	<i>15WC</i>	<i>10WC</i>	<i>5WC</i>	<i>0WC</i>	<i>15WC</i>	<i>10WC</i>	<i>5WC</i>	<i>0WC</i>
Corn silage	40.0	40.0	35.0	35.0	28.0	28.0	14.0	15.0	22.0	27.0	10.0	13.0	16.0	10.0
Ground corn	34.4	37.0	40.5	42.7	46.4	48.4	64.3	66.0	60.5	58.0	69.0	68.4	67.2	69.0
Peanut meal	15.5	17.1	14.5	16.3	14.5	16.5	1.2	2.5	5.0	6.5	1.0	2.5	4.5	1.0
Whole cottonseed	5.0	--	5.0	--	5.0	--	15.0	10.0	5.0	--	15.0	10.0	5.0	--
CSFA ³	1.6	2.6	1.6	2.6	2.7	3.7	2.0	3.0	4.0	5.0	1.5	2.6	3.8	5.0
Urea	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	1.0	1.1	1.1	1.1	1.0	1.1	1.1	1.1
Mineral-vitamin mix ⁴	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5

¹Experimental period lasted 108 d.

²**ADAP-1:** adaptation diet 1 offered for from d 0 to 5; **ADAP-2:** adaptation diet 2 offered for from d 6 to 10; **ADAP-3:** adaptation diet 3 offered for from d 11 to 15; **GRO:** growing diet; **FIN:** finishing diet.

³**CSFA:** calcium salts of fatty acids.

⁴Mineral-vitamin mix contained 22% Ca, 2.6% S, 2% Mg, 8.5% Na, 2.0% P, 200 ppm Zn, 142 ppm Mn, 533 ppm Cu, 10.8 ppm , 40 ppm Co, and 1000 ppm monensin.

Table 3. Nutritional profile [dry matter (**DM**) basis] of the adaptation (**ADAP**), growing (**GRO**), and finishing (**FIN**) diets offered during the present experiment^{1,2}

<i>Item, % DM</i>	<i>ADAP-1</i>		<i>ADAP-2</i>		<i>ADAP-3</i>		<i>GRO</i>				<i>FIN</i>			
	<i>5WC</i>	<i>0WC</i>	<i>5WC</i>	<i>0WC</i>	<i>5WC</i>	<i>0WC</i>	<i>15WC</i>	<i>10WC</i>	<i>5WC</i>	<i>0WC</i>	<i>15WC</i>	<i>10WC</i>	<i>5WC</i>	<i>0WC</i>
<i>Nutritional profile</i>														
Crude protein	19.5	19.5	19.3	19.3	19.3	19.3	15.5	15.5	15.5	15.5	15.5	15.5	15.5	15.5
Ether extract	6.0	6.0	6.0	6.0	6.8	6.8	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
Neutral detergent fiber (NDF)	30.0	27.6	28.5	26.1	26.5	24.2	24.9	22.7	22.4	21.6	23.6	22.2	20.7	20.3
Physically effective NDF	27.0	24.0	25.0	23.0	23.0	21.0	24.0	21.0	21.0	19.0	23.0	21.0	19.0	18.0
Starch	42.0	44.0	44.0	46.0	45.0	47.0	51.0	53.0	53.0	53.0	53.0	54.0	54.0	54.0
Total digestible nutrients ³	75.0	77.0	76.0	78.0	78.0	80.0	78.0	80.0	80.0	82.0	79.0	80.0	82.0	83.0
Metabolizable energy, Mcal/kg ⁴	2.72	2.77	2.74	2.80	2.81	2.87	2.83	2.89	2.92	2.96	2.84	2.89	2.95	2.99
Net energy for maintenance, Mcal/kg ⁴	1.79	1.84	1.81	1.87	1.87	1.93	1.89	1.94	1.96	2.00	1.89	1.94	1.99	2.02
Net energy for gain, Mcal/kg ⁴	1.17	1.21	1.18	1.23	1.24	1.28	1.24	1.28	1.31	1.34	1.27	1.31	1.35	1.37

Fatty acid (FA), % total FA

C16:0	11.4	4.7	11.5	4.6	13.2	5.3	27.9	26.8	24.7	22.4	27.0	26.2	25.9	23.7
C16:1 <i>trans</i> -9	0.4	0.0	0.4	0.0	0.5	0.0	0.1	0.3	0.2	0.4	0.2	0.4	0.2	0.4
C18:0	2.3	2.8	2.3	2.8	2.6	3.2	4.9	4.5	4.0	3.8	4.4	4.2	4.2	3.8
C18:1 <i>cis</i> -9	25.4	35.3	25.3	35.3	30.0	40.4	37.5	34.5	29.5	26	34.4	32.5	31.3	28.5
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	22.9	28,1	23.4	28,9	24.0	29,7	24.5	29.1	38.1	44.8	29.4	33.1	34.2	40.2
C18:3 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	0.5	0.1	0.5	0.1	0.5	0.1	0.8	0.7	0.6	0.5	0.6	0.5	0.9	0.5
Saturated FA	15.5	17.9	15.7	18.0	17.9	20.7	36.0	34.2	30.9	28.0	34.3	32.9	32.7	30.0
Monounsaturated FA	24.7	23.2	25.1	23.3	26.3	27.8	38.2	35.2	30.3	26.5	35.1	33.2	31.9	29.2
Polyunsaturated FA	23.4	16.8	24.0	17.3	24.6	19.2	25.7	30.4	38.8	45.5	30.5	33.9	35.4	41.0

¹Experimental period lasted 108 d.

²**ADAP-1:** adaptation diet 1 offered for from d 0 to 5; **ADAP-2:** adaptation diet 2 offered for from d 6 to 10; **ADAP-3:** adaptation diet 3 offered for from d 11 to 15; **GRO:** growing diet; **FIN:** finishing diet.

³Calculated according to equations described by Weiss et al. (1992).

⁴Calculated according to equations described by NASEM (2016).

Table 3. Feedlot performance of *Bos indicus* bulls offered isolipidic diets containing 15, 10, 5, or 0% [dry matter (**DM**) basis] of whole cottonseed (**WC**) and 2, 3, 4, or 5% of calcium salts of fatty acids (**CSFA**) as lipid sources¹

Item ²	Treatments				SEM	P-value		
	15WC	10WC	5WC	0WC		0WC vs. WC	Linear	Quadratic
Body weight, kg								
Initial	302.7	302.2	300.7	303.0	10.92	0.93	0.99	0.90
Day 15	324.6	328.7	336.5	335.4	11.55	0.69	0.44	0.82
Day 55	387.0	389.5	390.2	393.9	13.72	0.77	0.75	0.94
Final	478.3	485.2	481.1	485.5	16.84	0.84	0.82	0.94
Average daily gain, kg								
Days 0 - 15	2.04	2.21	2.25	1.75	0.15	0.02	--	--
Days 16 -55	1.47	1.45	1.43	1.49	0.08	0.67	0.89	0.66
Days 56 -108	1.79	1.83	1.76	1.74	0.07	0.51	0.49	0.68
Overall	1.68	1.72	1.68	1.63	0.09	0.42	0.54	0.52
Dry matter intake, kg/d								
Days 0 - 15	9.21	9.26	9.43	9.21	0.33	0.80	--	--
Days 16 -55	10.79	11.65	10.97	11.30	0.41	0.73	0.65	0.54
Days 56 -108	11.95	11.94	11.45	11.70	0.47	0.89	0.56	0.77
Overall	11.16	11.48	10.98	11.21	0.41	0.99	0.85	0.90
Dry matter intake, % BW								
Days 0 - 15	2.92	2.97	3.01	2.91	0.06	0.42	--	--
Days 16 -55	3.00	3.24	3.05	3.14	0.05	0.45	0.30	0.17

Days 56 -108	2.74	2.73	2.62	2.69	0.05	0.98	0.31	0.41
Overall	2.86	2.95	2.84	2.90	0.05	0.86	0.93	0.72
<i>Feed efficiency, g/kg</i>								
Days 0 - 15	220	238	236	191	10	< 0.01	--	--
Days 16 -55	135	124	130	132	4	0.70	0.76	0.11
Days 56 -108	148	152	154	148	3	0.35	0.82	0.08
Overall	150	149	153	145	2	0.03	0.26	0.12
<i>Dry matter intake fluctuation³, %</i>								
Days 0 – 15	6.56	6.44	5.82	5.66	0.69	0.44	--	--
Days 16 -55	3.95	3.24	5.65	3.32	0.45	0.06	0.81	0.07
Days 56 -108	3.10	2.69	3.43	2.46	0.35	0.12	0.45	0.42
Overall	3.90	3.53	4.50	3.29	0.28	0.03	0.48	0.13

¹Diets were offered for 108 d.

²Body weight measurements on d 15 and 55 were obtained as full.

³Calculated according to methodologies described by Bevens et al. (2005).

Table 5. Nutrient intake of *Bos indicus* bulls offered isolipidic diets containing 15, 10, 5, or 0% [dry matter (**DM**) basis] of whole cottonseed (**WC**) and 2, 3, 4, or 5% of calcium salts of fatty acids (**CSFA**) as lipid sources¹

Item	Treatments				SEM	P-value		
	15WC	10WC	5WC	0WC		0WC vs. WC	Linear	Quadratic
Nutrient intake, kg/d ²								
CP	1.74	1.84	1.81	1.75	0.06	0.53	0.92	0.16
EE	0.80	0.85	0.94	0.81	0.03	0.54	0.90	0.17
NDF	2.50	2.61	2.61	2.53	0.10	0.73	0.83	0.38
peNDF	2.30	2.39	2.41	2.35	0.11	0.91	0.75	0.54
Starch	5.67	6.07	5.93	5.74	0.19	0.50	0.94	0.14
TDN	8.74	9.14	8.85	9.20	0.33	0.45	0.47	0.94
Fatty acid (FA) intake, g/d								
C12:0	2.31	2.92	3.40	3.99	0.14	< 0.01	< 0.01	0.94
C14:0	4.61	5.19	5.67	5.38	0.17	0.29	< 0.01	0.02
C16:0	194.1	219.2	218.1	227.8	7.20	0.05	< 0.01	0.29
C16:1 <i>trans</i> -9	3.46	2.28	2.90	1.90	0.10	< 0.01	< 0.01	0.36
C17:0	1.82	1.14	1.14	1.70	0.07	< 0.01	0.24	< 0.01
C18:0	31.84	35.58	35.91	38.55	1.21	< 0.01	< 0.01	0.65
C18:1 <i>cis</i> -9	229.1	263.1	274.9	292.8	8.61	< 0.01	< 0.01	0.36
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12	352.3	308.6	259.4	242.8	11.68	< 0.01	< 0.01	0.26
C18:3 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	4.62	6.48	5.05	6.10	0.19	< 0.01	< 0.01	0.04
C20:0	4.13	4.55	4.54	5.27	0.17	< 0.01	< 0.01	0.36

C20:1	1.82	2.28	2.78	2.38	0.08	0.34	< 0.01	< 0.01
C20:3 n-6	1.82	1.79	2.27	2.30	0.08	< 0.01	< 0.01	0.68
C23:0	1.82	1.14	1.14	1.19	0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.01
C24:0	3.46	5.20	4.54	5.38	0.16	< 0.01	< 0.01	< 0.01
Saturated FA	243.8	275.1	275.6	289.8	9.99	0.04	0.01	0.40
Monounsaturated FA	234.9	269.3	281.1	298.8	9.4	< 0.01	< 0.01	0.38
Polyunsaturated FA	358.7	316.8	267.7	252.2	11.85	< 0.01	< 0.01	0.28
Overall	837,4	873,5	824,4	840,8	10,41	<0.01	< 0.01	0.75
Ratio ³								
SFA:MUFA	1.03	1.02	0.98	0.97	0.005	< 0.01	< 0.01	0.53
SFA:PUFA	0.68	0.86	1.03	1.17	0.029	< 0.01	< 0.01	0.38
n-3/n-6	54,7	37,31	35,43	28,90	5.02	< 0.01	< 0.01	0.46

¹Diets were offered for 108 d.

²**CP:** crude protein; **EE:** ether extract; **NDF:** neutral detergent fiber; **peNDF:** physically effective NDF; **TDN:** total digestible nutrients.

³**SFA:MUFA:** saturated FA:monounsaturated FA; **SFA:PUFA:** saturated FA:monounsaturated FA.

Table 6. Dietary net energy (NE) utilization efficiency of *Bos indicus* bulls offered isolipidic diets containing 15, 10, 5, or 0% [dry matter (DM) basis] of whole cottonseed (WC) and 2, 3, 4, or 5% of calcium salts of fatty acids (CSFA) as lipid sources^{1,2}

Item	Treatments				SEM	P-value		
	15WC	10WC	5WC	0WC		0WC vs. WC	Linear	Quadratic
<i>NE for maintenance (NE_m), Mcal/kg</i>								
Days 0 - 15	2.22	2.33	2.32	2.01	0.085	0.01	--	--
Days 16 - 55	1.71	1.61	1.67	1.66	0.034	0.94	0.54	0.17
Days 56 - 108	1.99	2.04	2.05	1.99	0.031	0.32	0.86	0.08
Overall	1.91	1.90	1.93	1.86	0.028	0.12	0.41	0.30
<i>NE for gain (NE_g), Mcal/kg</i>								
Days 0 - 15	1.53	1.63	1.63	1.35	0.075	0.01	--	--
Days 16 - 55	1.09	1.05	1.05	1.05	0.03	0.94	0.54	0.17
Days 56 - 108	1.33	1.38	1.39	1.34	0.027	0.32	0.87	0.08
Overall	1.26	1.25	1.28	1.22	0.024	0.12	0.40	0.29
<i>Observed:Expected ratio</i>								
<i>NE_m</i>								
Days 0 - 15	1.22	1.28	1.18	1.06	0.046	0.01	--	--
Days 16 - 55	0.91	0.83	0.85	0.83	0.017	0.12	0.01	0.13
Days 56 - 108	1.05	1.05	1.03	0.99	0.016	< 0.01	0.01	0.18
Overall								
<i>NE_g</i>								
Days 0 - 15	1.28	1.36	1.35	1.08	0.068	0.01	--	--
Days 16 - 55	0.88	0.78	0.80	0.78	0.025	0.17	0.02	0.02

Days 56 - 108	1.05	1.05	1.03	0.97	0.020	0.01	0.01	0.19
---------------	------	------	------	------	-------	------	------	------

¹Diets were offered for 108 d.

Table 7. Dietary selectivity index of *Bos indicus* bulls offered isolipidic diets containing 15, 10, 5, or 0% [dry matter (**DM**) basis] of whole cottonseed (**WC**) and 2, 3, 4, or 5% of calcium salts of fatty acids (**CSFA**) as lipid sources^{1,2}

Item	Treatments				SEM	P-value ^{3,4}		
	15WC	10WC	5WC	0WC		T	D	T × D
Particle selectivity								
19 mm (long)	0.947 ^b	1.008 ^a	1.008 ^a	1.046 ^a	0.019	0.01 [*]	0.55	0.03
8 mm (medium)	0.962 ^b	1.012 ^a	1.010 ^a	1.031 ^a	0.009	< 0.01 [*]	0.49	< 0.01
1.18 mm (small)	1.008 ^a	1.001 ^b	1.000 ^b	1.001 ^b	0.002	0.03 ^{**}	<	0.08
							0.01	
Bottom (fine)	1.006 ^a	0.965 ^b	0.955 ^b	0.905 ^b	0.015	<	<	0.02
						0.001 [*]	0.01	

¹Diets were offered for 108 d.

²Different letters in the same line indicate differences at the $P < 0.05$ level.

³**T**: treatment effect; **D**: diet (adaptation, growing, or finishing) effect; **T × D**: treatment × diet interaction.

⁴Symbols in *P*-value for treatment also denote a linear (*) and quadratic (**) effect in the orthogonal contrast analysis.

Table 8. Ultrasound measurements (*L. thoracis* and *B. femoris*) and carcass characteristics of *Bos indicus* bulls offered isolipidic diets containing 15, 10, 5, or 0% [dry matter (**DM**) basis] of whole cottonseed (**WC**) and 2, 3, 4, or 5% of calcium salts of fatty acids (**CSFA**) as lipid sources¹

Item	Treatments				SEM	P-value		
	15WC	10WC	5WC	0WC		0WC vs. WC	Linear	Quadratic
Ultrasound measurements								
REA, cm ²								
Day 0	48.8	48.5	48.5	48.1	1.62	0.77	0.75	0.97
Day 55	56.6	57.3	58.0	56.8	0.68	0.54	0.69	0.18
Day 103	67.2	67.6	67.6	66.0	0.89	0.16	0.37	0.25
Δ	18.6	19.1	19.1	17.6	0.92	0.20	0.44	0.27
Daily gain	0.181	0.186	0.185	0.171	0.009	0.20	0.44	0.27
L. thoracis BFT, mm								
Day 0	2.0	2.0	2.0	1.9	0.08	0.70	0.97	0.58
Day 55	3.6	3.9	3.6	3.5	0.16	0.45	0.5	0.32
Day 103	4.9	5.3	4.9	5.1	0.27	0.79	0.76	0.65
Δ	2.9	3.4	3.0	3.2	0.28	0.79	0.76	0.64
Daily gain	0.028	0.033	0.029	0.031	0.003	0.79	0.76	0.64
B. femoris BFT, mm								
Day 0	2.9	3.0	3.0	3.0	0.11	0.94	0.75	0.41
Day 55	4.9	5.5	5.4	5.6	0.19	0.23	0.04	0.32
Day 103	6.6	7.2	6.7	7.0	0.28	0.57	0.49	0.51
Δ	3.6	4.3	3.8	4.1	0.28	0.59	0.54	0.52

Daily gain	0.035	0.042	0.037	0.040	0.003	0.59	0.54	0.52
Marbling, %								
Day 0	2.43	2.52	2.20	2.34	0.15	0.82	0.41	0.88
Day 55	2.94	3.11	3.01	3.25	0.07	< 0.01	0.01	0.63
Day 103	3.06	3.21	3.16	3.35	0.07	0.01	0.01	0.72
Δ	0.70	0.76	0.83	0.98	0.08	0.02	0.01	0.61
<i>Carcass traits²</i>								
HCW, kg	259.6	260.8	258.0	267.5	9.54	0.48	0.63	0.67
DP, %	54.69	54.28	53.88	54.12	0.31	0.65	0.14	0.30
Carcass ADG, kg	1.05	1.05	1.02	1.00	0.03	0.48	0.40	0.83
YG, %	62.2	61.5	60.4	61.5	0.90	0.87	0.45	0.31

¹Diets were offered for 108 d.

²**HCW:** hot carcass weight; **DP:** dressing percent; **YG:** yield gain.

Table 9. Meat characteristics of *Bos indicus* bulls offered isolipidic diets containing 15, 10, 5, or 0% [dry matter (DM) basis] of whole cottonseed (WC) and 2, 3, 4, or 5% of calcium salts of fatty acids (CSFA) as lipid sources¹

Item	Treatments				SEM	P-value		
	15WC	10WC	5WC	0WC		0WC vs. WC	Linear	Quadratic
pH	6.11	6.22	6.23	6.24	0.10	0.63	0.37	0.64
Chemical composition, ² %								
Moisture	75.8	75.7	75.4	75.7	0.32	0.78	0.57	0.38
CP	21.4	21.5	21.4	21.1	0.16	0.14	0.24	0.34
EE	1.9	1.2	1.6	1.6	0.29	0.92	0.62	0.33
Ash	1.1	1.1	1.1	1.1	0.01	0.36	0.04	0.13
Colorimetric parameters ³								
L*	34.8	34.6	35.9	35.6	0.61	0.44	0.18	0.99
a*	19.1	19.2	19.2	19.8	0.32	0.08	0.13	0.43
b*	5.9	5.7	6.0	6.0	0.44	0.90	0.84	0.88
Cooking loss, %	27.1	24.7	23.8	26.8	1.96	0.49	0.84	0.18
WBSF, ⁴ kg	4.9	4.6	4.8	4.4	0.59	0.96	0.41	0.46

¹Diets were offered for 108 d.

²CP: crude protein; EE: ether extract.

³L*: lightness index (0 = black and 100 = white); a*: intensity of red color, an index that ranges from green (–) to red (+); b*: intensity of yellow color, an index ranging from blue (–) to yellow (+; Houben et al., 2000).

⁴WBSF: Warner-Bratzler Shear Force.

Table 10. Meat FA profile of *Bos indicus* bulls offered isolipidic diets containing 15, 10, 5, or 0% [dry matter (**DM**) basis] of whole cottonseed (**WC**) and 2, 3, 4, or 5% of calcium salts of fatty acids (**CSFA**) as lipid sources¹

<i>Fatty acid, % total</i>	<i>Treatments</i>				<i>SEM</i>		<i>P-value</i>	
	<i>15WC</i>	<i>10WC</i>	<i>5WC</i>	<i>0WC</i>	<i>0WC vs. WC</i>		<i>Linear</i>	<i>Quadratic</i>
C10:0	0.07	0.07	0.08	0.07	0.01	0.69	0.55	0.31
C12:0	0.10	0.08	0.10	0.08	0.01	0.27	0.31	0.75
C14:0	3.77	3.13	3.35	3.40	0.16	0.92	0.20	0.05
C14:1 <i>cis</i> -9	0.62	0.61	0.87	0.72	0.09	0.87	0.18	0.42
C15:0	0.33	0.29	0.28	0.27	0.02	0.33	0.09	0.43
C15:1 <i>cis</i> -10	2.17	2.13	2.37	2.77	0.35	0.18	0.19	0.53
C16:0	27.89	25.97	26.37	27.59	0.52	0.15	0.82	0.01
C16:1 <i>trans</i> -9	2.02	2.41	2.89	2.93	0.22	0.12	0.01	0.44
C17:0	0.63	0.67	0.59	0.58	0.04	0.22	0.19	0.50
C17:1 <i>cis</i> -10	0.41	0.53	0.46	0.47	0.05	0.99	0.58	0.24
C18:0	14.68	13.18	12.22	12.18	0.84	0.27	0.05	0.40
C18:1 <i>cis</i> -9	29.06	35.37	33.37	34.57	1.79	0.37	0.09	0.18
C18:1 <i>trans</i> -9	3.14	3.56	3.29	3.87	0.31	0.12	0.17	0.81
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11 CLA	9.40	8.78	7.49	7.46	1.11	0.39	0.16	0.79
C18:2 <i>cis</i> -7, <i>trans</i> -9 CLA	0.10	0.11	0.12	0.18	0.02	0.03	0.04	0.39
C18:2 <i>cis</i> -10, <i>trans</i> -10 CLA	9.48	8.86	7.58	7.63	1.12	0.43	0.19	0.77
C18:3 <i>cis</i> -9, <i>cis</i> -12, <i>cis</i> -15	0.32	0.29	0.24	0.44	0.04	< 0.001	0.11	0.01
C20:0	0.08	0.08	0.07	0.08	0.01	0.27	0.92	0.26
C20:1	0.14	0.20	0.18	0.17	0.01	0.60	0.45	0.02

C20:2	0.17	0.16	0.15	0.17	0.03	0.87	0.83	0.66
C20:3 n-6	0.17	0.31	0.35	0.25	0.05	0.64	0.24	0.03
C20:4	1.42	1.31	1.43	1.30	0.22	0.72	0.80	0.95
C20:5	0.27	0.27	0.29	0.31	0.05	0.59	0.59	0.82
C21:0	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.31	0.02	0.4
C22:0	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.1	< 0.01	< 0.01
C22:1	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.06	0.03	0.53
C22:2	0.16	0.16	0.15	0.23	0.01	< 0.001	< 0.01	0.01
C23:0	0.12	0.11	0.10	0.12	0.02	0.70	0.90	0.55
Saturated FA	47.35	43.62	43.03	44.43	1.02	0.81	0.03	0.02
Monounsaturated FA	37.93	44.82	45.23	45.02	2.11	0.36	0.04	0.10
Polyunsaturated FA	11.96	11.46	10.23	11.70	1.25	0.74	0.72	0.45
n-3	0.36	0.35	0.31	0.47	0.06	0.04	0.23	0.13
n-6	9.36	8.77	7.49	8.45	1.05	0.94	0.36	0.45
Overall	97,24	99,9	98,49	101,15	1,46	0,75	0.02	0.36
Ratio								
SFA:MUFA	1.25	0.97	0.95	0.99	0.07	0.13	0.04	0.02
SFA:PUFA	3.96	3.81	4.21	3.80	0.10	0.05	0.45	0.03

¹Diets were offered for 108 d.

Figure 1. Serum concentration of leptin in *Bos indicus* bulls offered isolipidic diets containing 15, 10, 5, or 0% [dry matter (DM) basis] of whole cottonseed (WC) and 2, 3, 4, or 5% of calcium salts of fatty acids (CSFA) as lipid sources. A treatment $\times$ day interaction was observed on serum lactate ($P < 0.01$). Different letters indicate differences at $P < 0.05$ level.

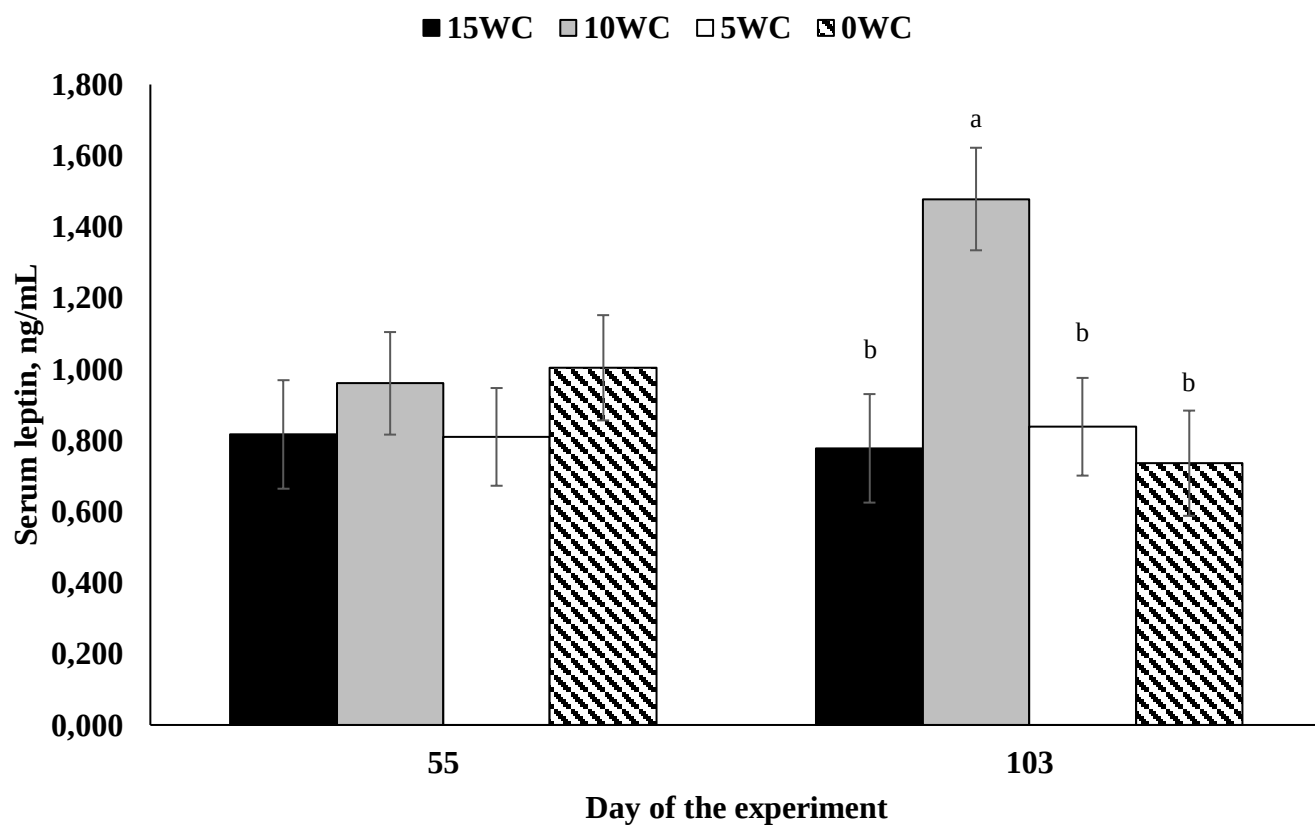
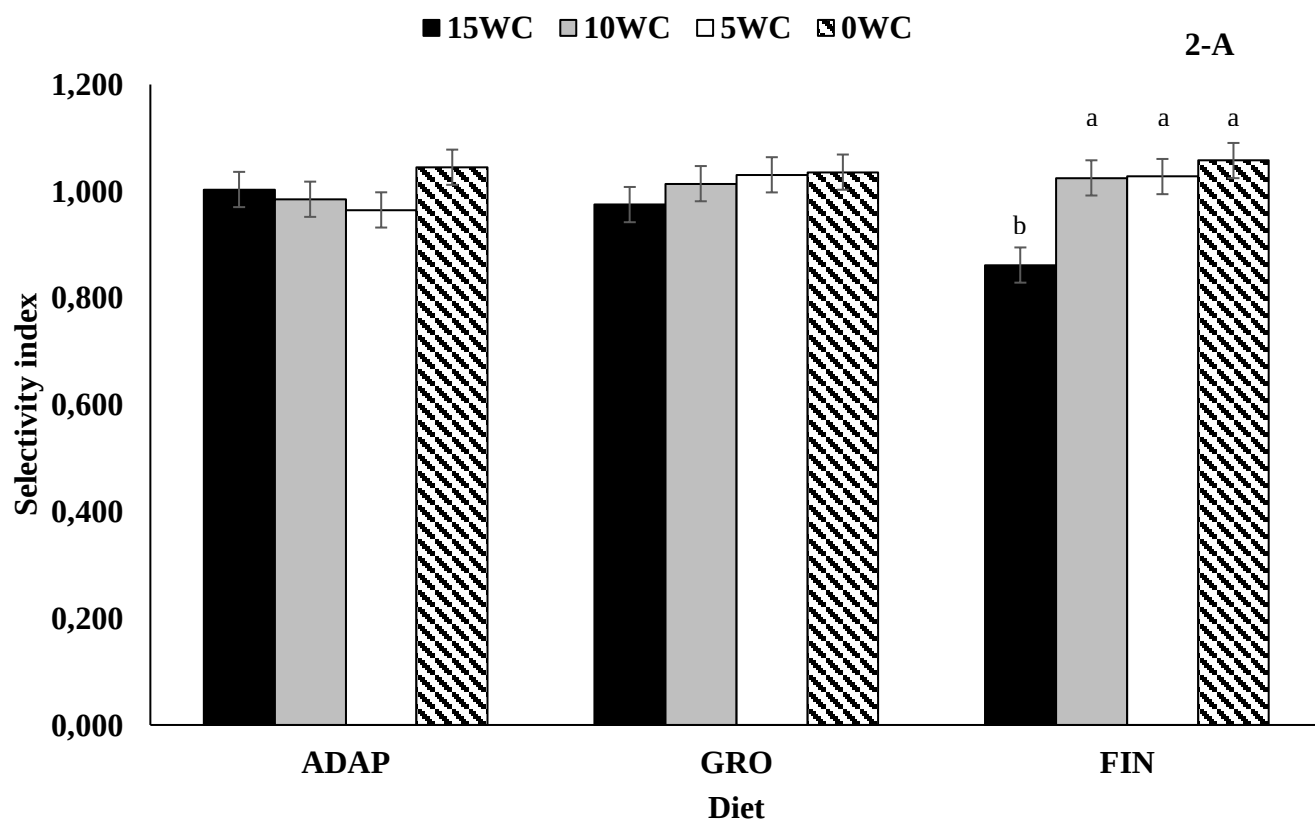
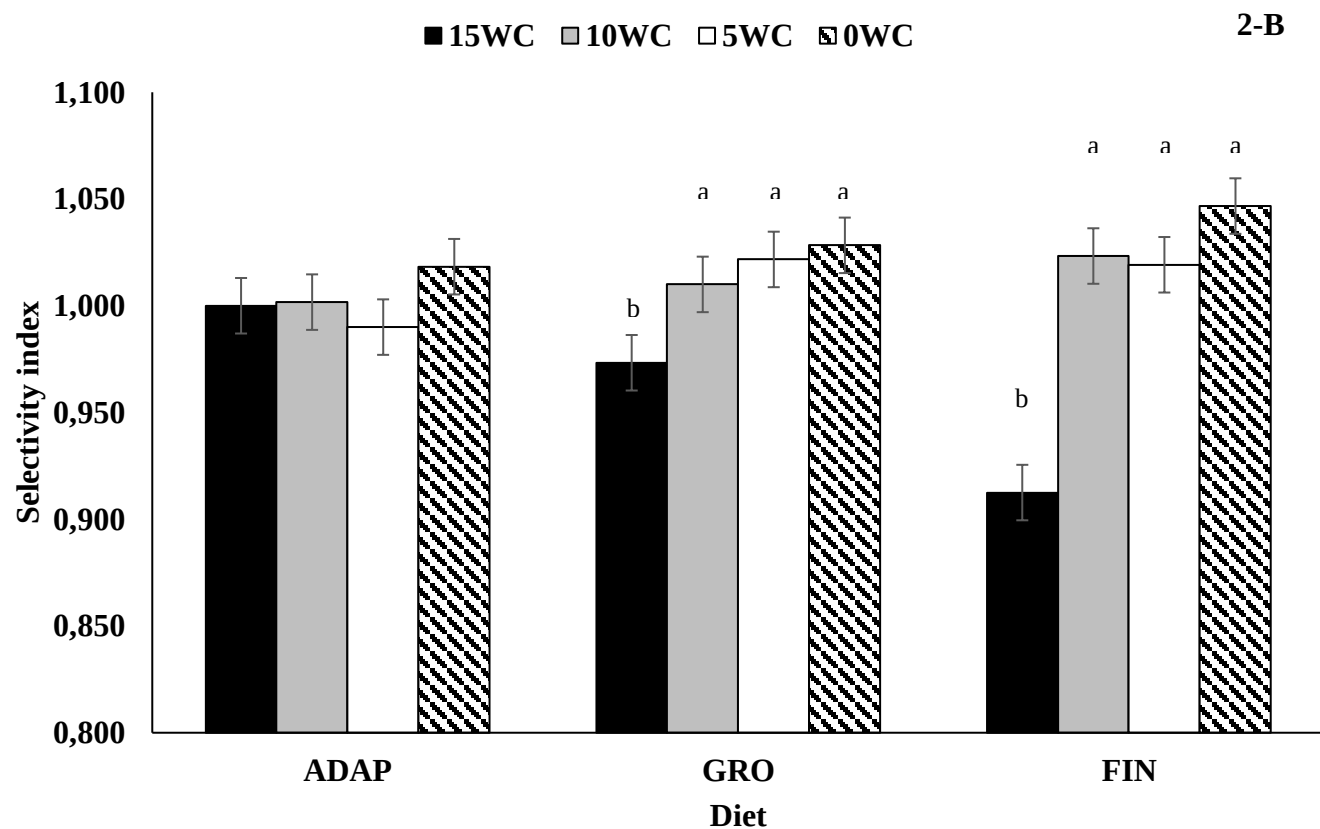
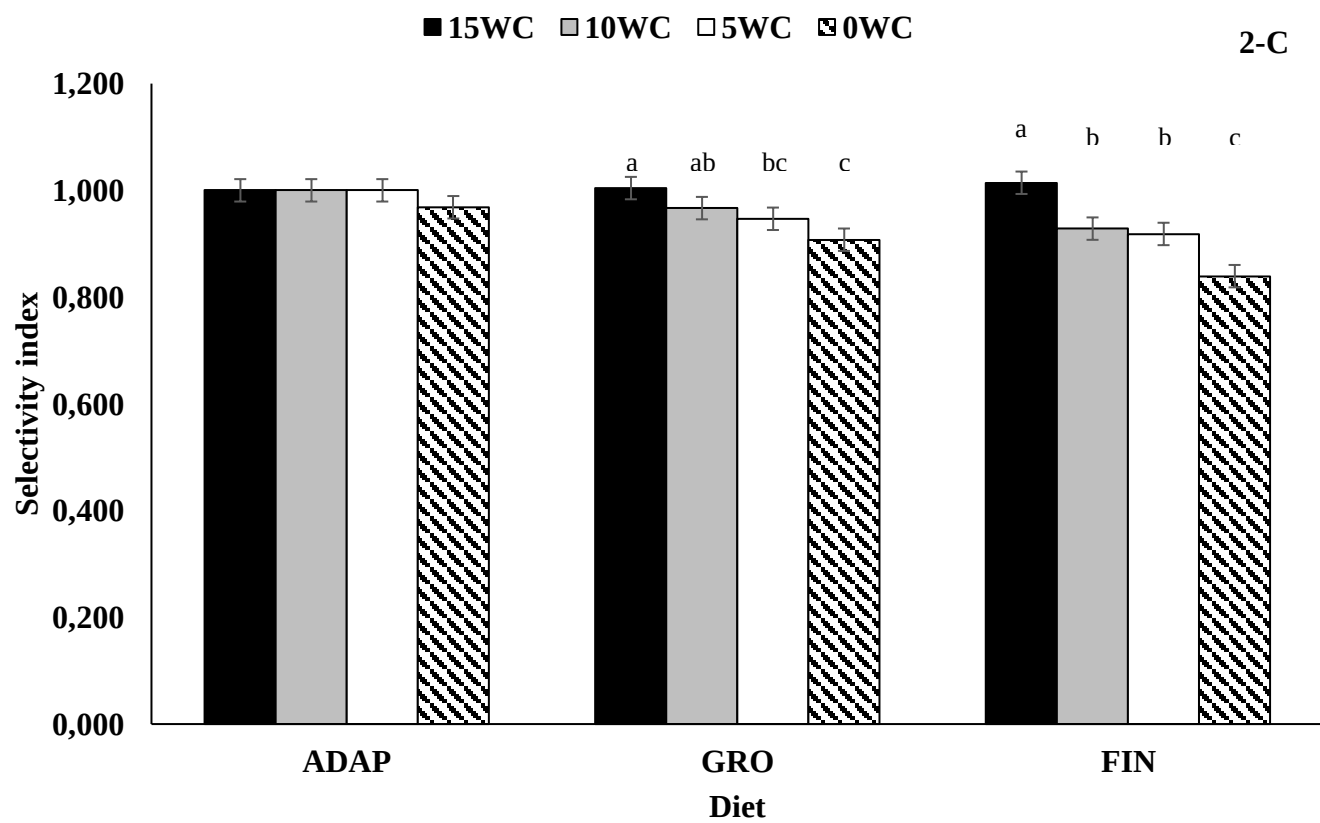


Figure 2. Dietary selectivity index of *Bos indicus* bulls offered isolipidic diets containing 15, 10, 5, or 0% [dry matter (DM) basis] of whole cottonseed (WC) and 2, 3, 4, or 5% of calcium salts of fatty acids (CSFA) as lipid sources. Treatment × diet interactions were observed for long (Figure 2-A), medium (Figure 2-B), and fine (Figure 2-C) particles ($P \leq 0.03$). **ADAP** = adaptation diet; **GRO** = growing diet; **FIN** = finishing diet.





CAPITULO 2

Efeitos da associação entre caroço de algodão e sais cálcicos de ácidos graxos na característica química, perfil lipídico e Proteômico de bovinos Nelore confinados recebendo dietas ricas em concentrado

Resumo: O experimento foi delineado para avaliar os efeitos da associação entre caroço de algodão (CA) e sais cálcicos de ácidos graxos (SCAG) sob o consumo de matéria seca (CMS), desempenho, características de carcaça, saúde ruminal e qualidade de carne de bovinos de corte *Bos indicus* recebendo dietas com alto teor de concentrado. No dia 0, 96 animais não castrados foram bloqueados pelo peso vivo (PV) inicial ($302 \pm 26,7$ kg), alocados aleatoriamente em 1 de 4 tratamentos: 1) **0CA**: 0% de CA e 5% de SCAG de óleo de palma, soja e algodão ($n = 6$), 2) **5CA**: adição de 5% de CA e 4% de SCAG de óleo de palma, soja e algodão ($n = 6$), 3) **10CA**: adição de 10% de CA e 3% de SCAG de óleo de palma, soja e algodão ($n = 6$) e 4) **15CA**: adição de 15% de CA e 2% de SCAG de óleo de palma, soja e algodão ($n = 6$). Após o abate foram coletadas amostras de carne para ser analisada. Em contrapartida, a inclusão de CA resultou em diferenças no consumo de alguns AG, tais como C12:0, C16:0, C16:1 *trans*-9, C17:0, C18:0, C18:1 *cis*-9, C18:2 *cis*-9,*cis*-12, C18:3 *cis*-9,*cis*-12,*cis*-15, total AG saturados e insaturados ($P < 0,01$). A carne obtida dos animais após o abate não diferiu entre os tratamentos com relação à composição química, pH, força de cisalhamento e parâmetros colorimétricos ($P \geq 0,36$). O teor de C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0, C18:1 *cis*-9, C18:1 *trans*-9, C18:2 *cis*-9, *trans*-11 também não foi afetado pela inclusão de CA ($P \geq 0,37$), mas o C18:2 *cis*-7,*trans*-9 e C18:3 *cis*-9,*cis*-12,*cis*-15 apresentaram aumento ($P < 0,001$). O teor de AG saturados na carne apresentou um efeito quadrático ($P = 0,02$), enquanto a concentração de AG insaturado foi menor para 15CA ($P < 0,04$). Concluímos que a associação de CA e SCAG não influencia no desempenho e consumo dos animais, mas melhora a eficiência e aumenta o grau de marmoreio.

Introdução

O adensamento energético com inclusão de lipídios, nas dietas de bovinos, objetiva-se em otimizar o desempenho e eficiência alimentar (EA; Carvalho et al., 2020; Nascimento et al., 2020). O caroço de algodão (**CA**) e os sais cálcicos de ácidos graxos (**SCAG**), são duas fontes lipídicas amplamente utilizadas (Samuelson et al., 2016; Pinto & Millen 2018). A inclusão do CA nas dietas de confinamento, é em torno de 15% da MS, devido a toxicidade do gossipol que influencia no desempenho e alterações no perfil lipídico (Zinn., 1995; Cranston et al., 2006; Gouvêa et al., 2020). Poucas pesquisas avaliam a sua inclusão respeitando as suas características nutricionais, as mesmas visam substituir carboidratos fermentáveis no rúmen, por elevado EE, objetivando reduzir a ocorrência de distúrbios metabólicos (Cranston et al., 2006; Gouvêa et al., 2020).

A inclusão de 15% de CA, não é suficiente para atingir 7% de EE, valor considerado benéfico para ganho de peso diário (**GPD**) e EA (Krehbiel et al. 2014) além de melhorar as características de carcaça (Zinn, 1989; Zinn et al. 2000). No entanto, a literatura demonstra que a inclusão de SCAG, também melhora esses parâmetros (Fiorentini et al., 2012; Andrade et al., 2014; Rosa e Silva et al., 2019; Nascimento et al., 2020), favorecendo a associação com CA. A busca por novas estratégias nutricionais visa melhorar a deposição de gordura subcutânea e intramuscular em bovinos Nelore, que apresentam baixos índices (Martins et al., 2005). Visto isto, os AG influenciam no metabolismo de lipídios, sendo os saturados (**AGS**) reguladores positivos e os poliinsaturados (**AGPI**) inibidores, impactando diretamente no desempenho e qualidade de carne (Choi et al, 2015). Sendo assim, a associação entre CA e SCAG fornece dois tipos de proteção aos AG no ambiente ruminal, permitindo o escape de AG insaturados (**AGI**) para serem absorvidos no duodeno (Cappelozza et al., 2020). Portanto, nós hipotetizamos que a associação entre CA (proteção física dos lipídios no interior da semente) e os SCAG (proteção química com a saponificação dos AGI com sais de cálcio) possibilitaria o incremento nos níveis de EE da dieta alteraria a expressão proteica e alteraria o perfil lipídico da carne. Além disso, o teor elevado de AGI destes ingredientes poderia beneficiar a deposição de gordura subcutânea e intramuscular. Portanto, nosso objetivo foi avaliar os efeitos da associação entre CA e SCAG sobre o Proteômica, qualidade de carne e perfil de carne de bovinos Nelore confinados.

Material e Métodos

O estudo foi conduzido no confinamento experimental do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, Universidade Estadual Paulista – Campus de Botucatu, São Paulo, Brasil (22°53'25" S, 48°27'19" W e elevação de 828 m) entre Abril e Agosto de 2019. Os animais utilizados foram manejados de acordo com práticas aceitáveis e protocolos experimentais revisados e aprovados pelo Comitê Institucional de Atenção e Uso de Animais (# 017/2019).

Animais, dietas e local experimental.

No dia 0 do estudo, 96 *Bos indicus* touros Nelore foram blocados pelo peso vivo (PV) inicial ($302 \pm 26,7$ kg; idade inicial = 20 ± 2 meses) e alocados em 1 das 24 baias (4 animais/baia). Dentro dos blocos ($n = 24$), as baias foram aleatoriamente distribuídas entre os 4 tratamentos: 1) **0CA**: adição de 0% de CA e 5% de SCAG de óleos de palma, soja e algodão (Nutri Gordura Terminação; Nutricorp, Araras, SP, Brasil); 2) **5CA**: adição de 5% de CA e 4% de SCAG de óleos de palma, soja e algodão; 3) **10CA**: com adição de 10% de CA e 3% de SCAG de óleos de palma, soja e algodão; 4) **15CA**: com adição de 15% de CA e 2% de SCAG de óleos de palma, soja e algodão. A descrição completa da composição e perfil nutricional das dietas de adaptação, crescimento e terminação, assim como seus respectivos períodos de oferecimento está reportado na Tabela 1.

Considerando que o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito associativo do CA e SCAG como fontes lipídicas para os animais, as dietas foram formuladas para serem isolipídicas, isonitrogenadas e isocalóricas (Tabela 1) com o Large Ruminant Nutrition System (Fox et al., 2004) para um ganho de peso diário (GPD) de 1,7 kg/dia. Os animais foram submetidos a um protocolo de adaptação *step-up* por um período de 15 dias, no qual se adaptaram às instalações, recebendo dietas com proporções decrescentes de forragem (de 40 a 28%; base MS) em um intervalo de 5 dias até atingir os níveis apresentados na Tabela 1. O experimento teve uma duração de 108 dias e, durante todo o período experimental, os animais receberam as dietas 2 vezes ao dia (10:00 e 16:00hrs), na proporção de 55 e 45% da quantia diária total, de maneira a garantir um consumo *ad libitum* das mesmas. Os animais foram mantidos em uma instalação coberta com piso de concreto e um bebedouro para garantir acesso total e livre dos animais à água com uma lotação de 4 animais por baia (7,5 m² e 1,25 m de cocho por animal).

Sete dias antes do início do estudo, os animais foram vermifugados (Dectomax; Zoetis Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil) e vacinados contra *clostridium* (Covexin-10; MSD Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil). Do dia -7 ao -1, os animais receberam uma dieta contendo (base MS) 35% bagaço de cana, 20% silagem de milho, 25% milho moído seco, 18% farelo de amendoim, 1,5% núcleo vitamínico-mineral e 0,5% ureia. As dietas foram oferecidas a uma taxa de 2% do PV obtido no momento da chegada às instalações (dia -7). O manejo descrito acima entre os dias -7 e -1 teve o intuito de padronizar a microbiota ruminal dos animais e aclimatá-los às instalações antes do início do período experimental.

Avaliação de características de carne.

Após o abate dos animais, todas as carcaças foram resfriadas em uma câmara fria por 48 horas, posteriormente sendo coletadas amostras do músculo *L. thoracis* das carcaças esquerdas. Três peças de 2,5 cm foram coletadas próximas à 12º e 13º costela, para análise colorimétrica, perda de peso por cozimento e força de cisalhamento. Todas as peças foram identificadas, embaladas a vácuo e armazenadas a -20°C, até posterior análise laboratorial.

Composição química, colorimétrica, pH, perda por cocção e força de cisalhamento.

As análises de umidade, PB, EE e cinzas foram determinados pelas metodologias descritas pela AOAC (2007) utilizando os métodos 950,46, 981,10, 920,39 e 920,153, respectivamente.

Após as amostras serem descongeladas em geladeira por 24 horas e expostas a oxigênio por 20 minutos, o pH foi determinado utilizando um peagâmetro (modelo HI-99163; Hanna Instruments Brasil, Barueri, SP, Brasil). A avaliação colorimétrica foi realizada de acordo com Abularach et al. (1998), determinando os componentes L*, a* e b*. A cor foi avaliada na superfície das amostras usando o sistema CIE L*, a* e b* com um iluminante D65 e 10º como ponto de avaliação padrão. Um dispositivo Minolta CM-2500-D (konica Minolta, Osaka, Japão) foi usado para determinação da cor e calibrado com uma amostra em branco. Os seguintes parâmetros de cor foram usados da seguinte forma: L* é um índice de luminosidade (0 = preto e 100 = branco), a* é a intensidade da cor vermelha, um índice que varia de verde (-) a vermelho (+) e b* é a intensidade da cor amarela, um índice que varia de azul (-) a amarelo (+; Houben et al., 2000).

Após mensuração da cor, amostras do *L. thoracis* foram identificadas, pesadas em balança de precisão e cozidas a 170°C até que a temperatura interna atingisse 71°C,

conforme descrito pela AMSA (1995). Logo em seguida, as amostras foram resfriadas à temperatura ambiente e pesadas para determinação da perda de peso pelo cozimento (peso final – inicial; Honikel, 1998). As mesmas amostras foram posteriormente envolvidas em um plástico filme e colocadas na geladeira (4 - 6°C) por 24 horas e após esse período, foram coletados 8 cilindros de carne de cada amostra com 1,27 cm de diâmetro cada, de forma paralela as fibras. A partir desses cilindros foi determinada a força de cisalhamento, pelo corte em um dispositivo Warner-Bratzler Shear Force (**WBSF**) com uma velocidade de 20 cm/min, enquanto a força de cisalhamento de cada amostra foi determinada pela média das repetições e expressas como kg (Wheeler et al., 1997).

Perfil lipídico da carne.

Os lipídios totais da carne foram extraídos e submetidas a transesterificação dos triglicerídeos (Folch et al., 1957). Os ésteres metílicos foram analisados por um amostrador de cromatógrafo a gás automático (Trace GC Ultra, Thermo Scientific, EUA) equipado com uma coluna capilar de sílica fundida (100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,20 µm, Restek 2560) e um detector de ionização de chama a 240°C. Os AG foram identificados com base no tempo de retenção do padrão (Sigma, FAME Mix, C4-C24) e o cálculo das áreas de pico determinadas pelo software Chromquest 5.0 Clarity Lite (versão 2.4.191; DataApex, Prague, Czech Republic). A quantificação desses AG, em mg/g de lipídios totais, foi realizada em relação ao padrão interno utilizado, tricosonoato de metila (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO).

TBARS

Para analisar a estabilidade lipídica, o conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi determinado usando a técnica de precipitação ácida descrita por Tarladgis, Watts e Younathan (1960), com pequenas modificações. Usamos 50 g de LD (S3-S6) após envelhecimento a vácuo a 2 ° C por 0, 7, 14 e 21 dias pós-morte (após a leitura da cor da carne). Desse montante, foram produzidos 10 g, contendo 8 g de carne e 2 g de gordura. Essas amostras foram trituradas em multiprocessador, sendo adicionados 0,2 mL de antioxidante BHT (0,03%) e 50 mL de água destilada. As amostras foram então trituradas novamente e homogeneizadas por 1 min. Após a homogeneização, as amostras foram transferidas para um balão volumétrico de 250 mL contendo peças de porcelana, ao qual foram adicionados 50 mL de uma solução de HCl 4 M. Posteriormente, as amostras foram destiladas em manta térmica a 100 ° C, até a coleta de 50 mL do destilado. Do destilado, 5 mL foram transferidos para um tubo de ensaio e 5 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,02 M foram adicionados. Os tubos de ensaio permaneceram em

banho-maria por 35 min e resfriados em água corrente. A absorvância foi medida a 530 nm com um espectrofotômetro (Hitachi High Technologies America, Inc., Modelo U-2900, Pleasanton, EUA). Os valores de TBARS foram expressos como mg de malonaldeído (MDA) por kg de carne mais gordura usando uma curva padrão preparada a partir de 1,1,3,3 tetraetoxipropano (TEP).

Análise do Proteoma

O proteoma do tecido adiposo subcutâneo foi avaliado conforme procedimentos previamente descritos na literatura (Baldassini et al., 2015), com mínimas adaptações. Durante o abate, foram colhidas na carcaça quente amostras individuais da gordura subcutânea próxima ao músculo *Longissimus thoracis* (entre a 12ª e 13ª costelas). Essas amostras foram preservadas em nitrogênio líquido e, posteriormente armazenadas individualmente em freezer -80 °C até a utilização nas análises de eletroforese bidimensional (2D-PAGE) descritas a seguir.

Para representar cada um dos tratamentos experimentais do estudo (n = 4), utilizou-se um *pool* de amostras de tecido adiposo subcutâneo – TAS (n = 6 animais/ tratamento). Foram pesados aproximadamente 100 mg de TAS de cada animal, sendo homogeneizados em tubos contendo microbolhas de zircônia por um minuto para extração das proteínas. Nessa etapa, utilizou-se tampão de extração contendo ureia, tiourea, tris-HCl e agentes redutores e inibidores de proteases. Para cada tratamento do presente estudo, utilizou-se os *pools* de amostras biológicas, sendo analisados 48 géis no estudo do proteoma (12 géis/ tratamento - 15WC; 10WC; 5WC; and 0WC).

Extração e precipitação e das proteínas

Os extratos proteicos foram separados da parte sólida por 15 minutos de centrifugação a 10000 rpm, a 4°C. O conteúdo proteico desses extratos foi colocado em solução de acetona 80% (v/v) em geladeira, por 2 horas, para precipitação das proteínas. Em seguida, o processo de centrifugação foi repetido por 25 minutos, a 10000 rpm, para obtenção dos pellets de proteína para quantificação e procedimentos 2D-PAGE.

Separação das proteínas por eletroforese bidimensional (2D-PAGE)

A concentração de proteínas totais das amostras de tecido adiposo subcutâneo bovino foi quantificada pelo método do Biureto (Gornall et al., 1949). Os valores das concentrações proteicas (CP) obtidos foram utilizados para calcular o volume de amostra e solução necessárias para eletroforese, considerando a massa proteica de 375 mg de proteína e volume de 250 μ L a ser aplicado na primeira dimensão (separação das proteínas por ponto isoelétrico). O volume da amostra (VA) foi calculado pela seguinte fórmula ($VA = 375 / CP$ obtida).

As amostras foram solubilizadas em tampão contendo ureia; tiourea; (3-[(3-colaminopropil)-dimetilamônio]-1-propanosulfonato); anfólitos, azul de bromofenol e ditiotreitol, de modo que a solução final (amostra + solução) foi de 250 μ L. A diluição final do *pellet* de cada amostra foi realizada de modo que a concentração de proteínas totais resultante fosse 1,5 μ g/ μ L. A partir desta solubilização, para cada amostra, uma alíquota de 250 μ L foi adicionada a fita de focalização isoelétrica de 13 cm com um imobilizado anfólito e com gradiente de pH de 3 a 10, para hidratação por 12 h.

Após o período de hidratação, as fitas foram submetidas à primeira etapa da 2D-PAGE, que consiste na focalização isoelétrica (IEF) no equipamento Ettan IPGphor 3 (GE Healthcare). Nessa etapa, as proteínas foram fracionadas pelo ponto isoelétrico (PI), valor do pH quando a carga líquida total da proteína é nula. As corridas IEF tiveram duração média 4:30 h, seguindo a programação: Estágio 1 = 500 V, com acúmulo de 500 Vh; Estágio 2 = 1000 V, com acúmulo de 800 Vh; Estágio 3 = 10000 V, com acúmulo de 11300 Vh; Estágio 4 = 10000 V, com acúmulo de 3000 Vh. Posteriormente, as fitas foram colocadas em soluções de equilíbrio para redução, alquilação e submetidas à segunda etapa da 2D-PAGE, para fracionamento das proteínas de acordo com a massa molecular (MW) em gel de poliacrilamida 12,5%. Finalizada essa etapa, aproximadamente 500 ml de corante Coomassie coloidal foi usado para marcar e revelar os “spots” proteicos dos géis e, após 72 h, estes foram lavados com água ultrapura.

Tratamento de imagem

Os géis foram digitalizados e as imagens importadas no programa ImageMaster Platinum (GE Healthcare Life Sciences, v. 7.0) para comparações (contrastes) de imagens entre os tratamentos e obtenção de informações como número de “spots” por gel, % de

“*matching*” (correspondência entre os “spots” proteicos nos géis), ponto isoelétrico (pI), massa molar (MM) e volume dos “spots”. O *matching* dos géis dentro de cada amostra (três repetições técnicas) foi superior a 95%, demonstrando que 95% dos “spots” estavam presentes nas replicatas técnicas e houve boa reprodutibilidade. Após o tratamento de imagem, comparou-se as imagens entre tratamentos por meio do “*matching*” dos “spots” quanto à sua distribuição, volume, intensidade relativa, pIs e MM. O ImageMaster Platinum foi utilizado para a ANOVA dentro das comparações entre tratamentos e os spots proteicos divergentes ($P < 0,05$) foram selecionados.

Digestão triptica dos spots proteicos e identificação de proteínas por ESI-MS/MS

Noventa e seis pontos proteicos expressos diferencialmente nos grupos experimentais (15WC; 10WC; 5WC; e 0WC) foram selecionados com base no peso molecular (MW) e ponto isoelétrico (ii) obtidos por análise de imagem, cortados (fragmentos de aproximadamente 1 mm³) e preparados de acordo com o método de Shevchenko et al. (2007). Os sedimentos foram transferidos para microtubos e submetidos às seguintes quatro etapas: 1) Remoção do corante com bicarbonato de amônio de 25 mM (Ambic)/acetonitrilo (50:50, v/v). 2) Redução e alquilação em que os fragmentos de gel foram rehidratados em uma solução redutora e incubados por 40 min a 56 °C.

Após a remoção da solução redutor, foi adicionada a solução de alquilação e os fragmentos foram incubados no escuro por 30 minutos à temperatura ambiente. 3) Digestão de tripsina consistindo de incubação noturna a 37 °C com 10 ng.µL⁻¹ trypsin em 25 mM Ambic por 15 min (Trypsin Gold Mass Spectrometry, Promega, Madison, USA). 4) Eluição de peptídeos extraídos do gel utilizando três passos: A) 50% ACN com ácido fórmico de 1% incubado por 15 min a 40 °C sob sônica; o supernante foi coletado e transferido para um novo tubo. B) 60% de metanol com ácido fórmico de 1% incubado por 15 min a 40 °C sob sônica; o supernante foi coletado e transferido para um novo tubo. C) 100% ACN; os extratos foram secos em uma centrífuga a vácuo e os peptídeos foram dissolvidos em 10 µL de 3% de ACN com ácido fórmico de 0,1%.

Os espectros de massa dos peptídeos foram obtidos analisando alíquotas das soluções em um sistema uplc-xevo tq-ms nanoacquity (Waters, Manchester, Reino Unido). As proteínas foram identificadas no banco de dados UniProt (UniProtKB/Swiss Prot, www.uniprot.org) para o genoma de *Bos taurus*.

Bioinformática

Estudos de bioinformática foram conduzidos para classificação das proteínas diferencialmente expressas no tecido adiposo subcutâneo dos animais submetidos aos diferentes tratamentos (15WC; 10WC; 5WC; and 0WC) quanto aos processos biológicos (BP), função molecular (MF) e componentes celulares (CC). Para tanto, os códigos de acesso das proteínas identificadas por ESI/MS/MS foram inseridas no banco de dados UniProt (www.uniprot.org), extraindo-se suas sequências FASTA. Após essa etapa, as proteínas foram analisadas utilizando o softwares OMICSBOX v.2.0 (<https://www.biobam.com/omicsbox/>) e Blast2GO (Götz et al., 2008), relacionando as sequências FASTA das proteínas para classifica-las de acordo com os BP, MF e CC.

Adicionalmente, as interações entre as proteínas identificadas nos tratamentos (fêmeas versus machos) foram analisadas utilizando a plataforma STRING (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins, <http://string.embl.de>). As proteínas com diferenças de expressão entre os grupos experimentais foram utilizadas nessas análises. Essa etapa teve como finalidade gerar as redes de interação entre as proteínas identificadas no presente estudo, bem como suas relações com aquelas não identificadas pelas técnicas 2D-PAGE e ESI-MS/MS. O número de acesso de cada proteína foi carregado no software STRING v.11 (Franceschini et al., 2013), que foi configurado para busca em banco de dados da espécie *Bos taurus*. As interações mínimas foram estipuladas (*minimum required interaction score*) entre 0,900 (alta confiabilidade), e não mais do que 20 interações foram permitidas na busca no banco de dados. A análise string foi realizada utilizando-se o servidor STRING 11.0 para prever interações proteína-proteína. O banco de dados STRING emprega uma combinação de dados experimentais (experimentos e bancos de dados).

Análise estatística.

Para todas as análises realizadas neste experimento, a baía foi utilizada como unidade experimental. Todos os dados foram analisados usando o PROC MIXED do SAS (Versão 9.4; SAS Inst. Inc.; Cary, NC, EUA) e a aproximação de Satterthwaite para determinar o denominador de graus de liberdade para o teste de efeito fixo. O modelo usado para todas as análises continha os efeitos fixos de tratamento e bloco. Os dados, com exceção do CMS e EA, foram analisados usando animal(baía) e baía(tratamento) como variáveis aleatórias. Para os dados de CMS e EA, baía(tratamento) foi usado como variável aleatória. As variáveis de US obtidas no dia 0 foram analisadas como covariáveis e os resultados intermediário e final foram ajustados pela covariável obtida no dia 0. O

CMS, em kg e % PV, flutuação de consumo, ingestão de nutrientes e índice de seletividade foram analisadas como medida repetidas na baia. Os outros parâmetros analisados como leptina, lactato foram analisados como medida repetida no animal(baia). Para selecionar a estrutura de covariância que melhor explique a correlação residual, foram utilizados os Critérios de Informação de Akaike (AIC) e o Critério Bayesiano de Schwarz (BIC), sendo escolhido o modelo com menor valor de ambos. Contrastes ortogonais foram usados para a partição dos tratamentos específicos, como segue: 1) 0CA vs. inclusão de CA 2) contraste linear e 3) contraste quadrático e. Todos os resultados são relatados como médias de mínimos quadrados e separados usando o PDIFF. A significância foi definida como $P \leq 0.05$ e tendências foram determinadas se $P > 0.05$ e $P \leq 0.10$. Os resultados são relatados de acordo com os efeitos principais se nenhuma interação for significativa ou de acordo com a interação de ordem mais alta detectada.

Resultados

Composição, características e perfil lipídico da carne.

Não foram observados efeitos significativos nos teores de umidade, PB, EE, cinzas, WBSF e pH da carne ($P \geq 0,57$; Tabela 00). Na análise de coloração, as variáveis L^* , a^* e b^* também não foram afetadas pelos tratamentos experimentais ($P \geq 0,25$; Tabela 00).

A associação entre CA e SCAG influenciou em diferentes níveis os AG depositados na carne, tal qual resultando em um efeito linear negativo para as concentrações totais dos AG monoinsaturados, insaturados, C18:2 *cis*-9,*trans*-7 e C18:2 *cis*-7,*trans*-9 ($P = 0,04$; Tabela 00), mas a inclusão de CA aumentou de forma linear a saturação da carne. Não foram encontrados efeitos significativos nos outros AG ($P \geq 0,19$; Tabela 00).

Proteômica

Com base no estudo de imagem, o número médio de “spots” proteicos por tratamento foi de 96 para os tratamentos 15WC; 10WC; 5WC; and 0WC. Noventa e seis “spots” foram identificados na metodologia 2D-PAGE com diferença de expressão entre os tratamentos (Figura 1). Desse total, 90 proteínas foram caracterizadas por meio da técnica ESI-MS/MS (Tabela 1).

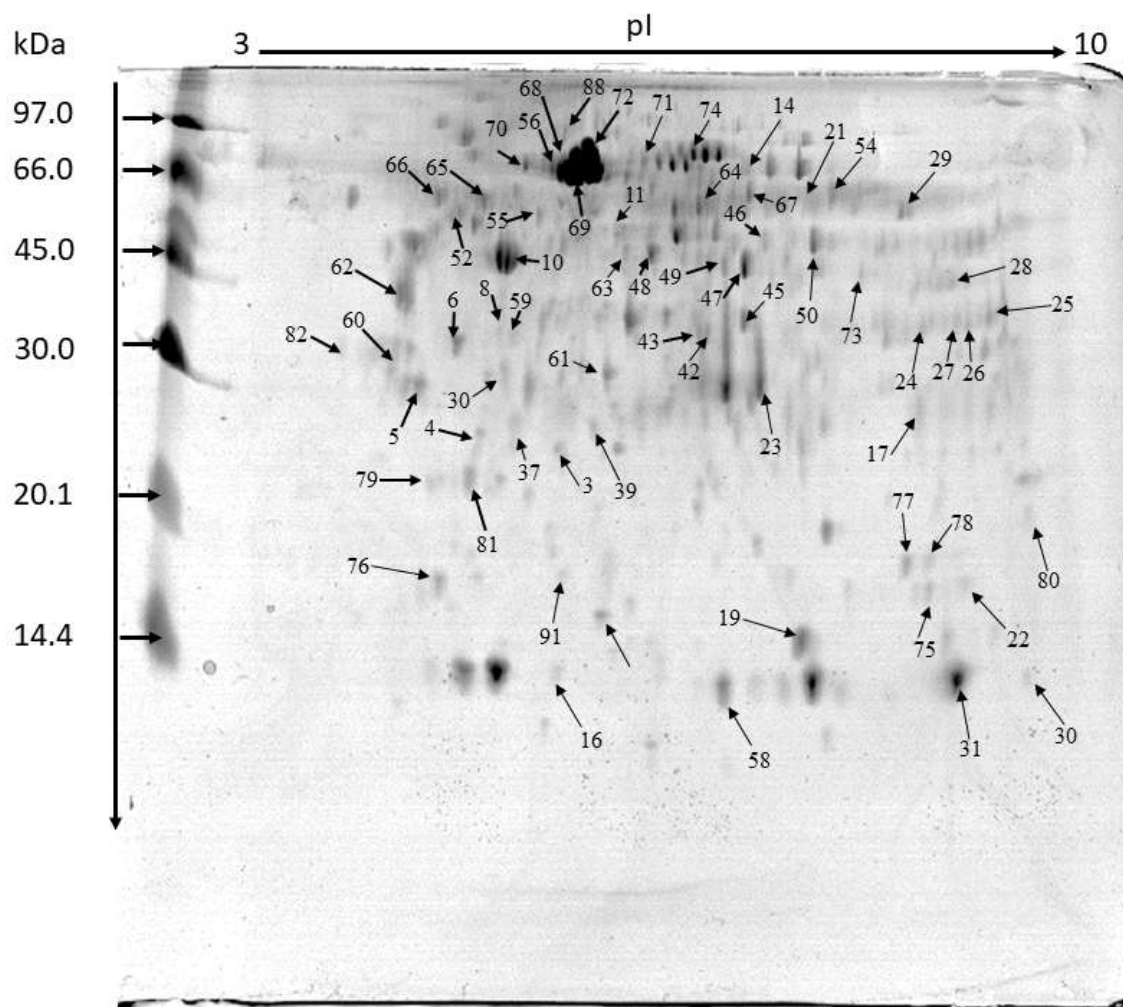


Figure 1. Representative two-dimensional electrophoresis gel (2D-PAGE) with proteins spots from subcutaneous adipose tissue (backfat) of Nellore bulls feedlot finished. The numbered circle spots (1–96) where the proteins identified by mass spectrometry (ESI-MS) characterization

Table 1. Proteins identified by two-dimensional electrophoresis gel (2D-PAGE) in combination with mass spectrometry (ESI-MS/ MS) in subcutaneous adipose tissue (backfat) of Nellore bulls feedlot finished. Animals were assigned to 1 of 4 treatments, as follow: 1) 15% of WC and 2% of CSFA [dry matter (DM) basis] of palm, cottonseed, and soybean oil (15WC), 2) 10% of WC and 3% of CSFA (DM basis) of palm, cottonseed, and soybean oil (10WC), 3) 5% of WC and 4% of CSFA (DM basis) of palm, cottonseed, and soybean oil (5WC), and 4) 0% of WC and 5% of CSFA (DM basis) of palm, cottonseed, and soybean oil (0WC).

SPOT ID	Access number	Protein	Score	pI/MM experimental	pI/MM theoretical	Contrast t	ANOVA	Fold-change
1	D4QBB4_BOVIN	Globin A1	6482.92	7.154/14.368	7.02/15.954	1 x 2	<0.005	Ausente em T1/Pres. em T2
2	SODC_BOVIN	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	244.7904	6.193/15.357	5.85/15.683	1 x 2	0.049	+1.204/-1.204
3	NDUS3_BOVIN	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 3, mitochondrial	373.3813	6.011/24.937	6.55/30.284	1 x 2	0.012	+1.540/-1.540
4	PSA3_BOVIN	Proteasome subunit alpha type-3	1105.474	5.201/24.119	5.19/28.405	1 x 2	0.049	-1.227/+1.227
5	1433G_BOVIN	14-3-3 protein gamma	1942.863	4.839/32.011	4.80/28.253	1 x 2	0.037	-1.605/+1.605
6	A1L5B6_BOVIN	Annexin	18335.1	5.068/30.408	4.93/36.074	1 x 2	0.029	+1.656/-1.656

7	ALBU_BOVIN	Albumin	71289.430 4	4.962/32.534	5.82 /69.293	1 x 2	<0.05	Ausente em T1/Pres. em T2
9	ESTD_BOVIN	S-formylglutathione hydrolase	1673.098	7.088/33.426	6.50/31.548	1 x 2	0.047	+1.651/-1.651
10	ACTG_BOVIN	Actin, cytoplasmic 2	32150.62	5.411/44.409	5.31/41.793	1 x 2	<0.005	Ausente em T1/Pres. em T2
11	ACTB_BOVIN	Actin, cytoplasmic 1	1052.35	6.370/46.311	5.29/41.737	1 x 2	0.006	+1.307/-1.307
14	A5PJ79_BOVIN	TKT protein	3275.14	7.497/63.493	7.20 /67.771	1 x 2	0.019	-1.616/+1.616
15	TRFE_BOVIN	Serotransferrin	2125.095	6.876/72.098	6.75/77.753	1 x 2	<0.05	Ausente em T1/Pres. em T2
17	Q1RMN8_BOVIN	Immunoglobulin light chain, lambda gene cluster	908.9933	8.451/26.590	7.54 /24.536	1 x 2	0.046	-1.958/+1.958
18	FABP4_BOVIN	Fatty acid-binding protein, adipocyte	12445.99	4.953/14.149	5.52 /14.678	1 x 2	0.037	-1.305/+1.305

19	FABP5_BOVIN	Fatty acid-binding protein 5	5564.323	7.798/14.366	7.58 /15.074	1 x 2	<0.05	Ausente em T1/Pres. em T2
20	PNPH_BOVIN	Purine nucleoside phosphorylase	1480.243	6.044/27.142	5.92/32.037	1 x 2	0.048	+1.678/-1.678
21	B3IVN4_BOVIN	M1-type pyruvate kinase	2515.751	7.903/59.974	9.13/16.527	1 x 2	0.015	-2.660/+2.660
22	PPIA_BOVIN	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	1231.333	9.129/16.455	8.34/17.869	1 x 2	<0.05	Ausente em T1/Pres. em T2
23	A0A0A0MP99_BOVIN	Carbonic anhydrase	10540.5	7.467/26.934	6.83/28.728	1 x 2	0.001	+1.705/-1.705
24	G3P_BOVIN	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	10272.49	8.893/34.779	8.51/35.868	1 x 2	<0.05	Ausente em T1/Pres. em T2
25	F1N338_BOVIN	Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	345.9317	9.397/36.898	9.04/34.391	1 x 2	0.028	-1.865/+1.865

26	G3P_BOVIN	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	9254.789	9.153/33.347	8.51/35.868	1 x 2	<0.05	Pres. em T1/Ausente em T2
27	G3P_BOVIN	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	8978.938	9.072/33.642	8.51/35.868	1 x 2	<0.05	Pres. em T1/Ausente em T2
28	A6QLL8_BOVIN	Fructose-bisphosphate aldolase	3126.717	9.088/43.322	8.45/39.436	1 x 2	<0.05	Pres. em T1/Ausente em T2
29	ATPA_BOVIN	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial	7505.924	8.629/56.355	9.21/59.720	1 x 2	<0.05	Pres. em T1/Ausente em T2
30	CH10_BOVIN	10 kDa heat shock protein, mitochondrial	4288.516	9.153/13.632	8.89/10.932	1 x 3	0.044	+2.906/-2.906
31	Q673L2_BOVIN	C5a anaphylatoxin receptor	39465.195 2	7.989/13.665	9.06/38.952	1 x 3	0.002	+2.620/-2.620
32	PPIA_BOVIN	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	1231.333	9.129/16.455	8.34/17.869	1 x 3	0.001	+2.885/-2.885
33	A0A1K0FUD3_BOVIN	Globin C1	6684.917	5.883/19.542	8.07/15.184	1 x 3	<0.05	Ausente em T1/Pres. em T3

34	HBA_BOVIN	Hemoglobin subunit alpha	1242.553	7.231/22.698	8.07/15.184	1 x 3	<0.05	Ausente em T1/Pres. em T3
35	PSA3_BOVIN	Proteasome subunit alpha type-3	1105.474	5.201/24.119	5.19/28.405	1 x 3	<0.05	Ausente em T1/Pres. em T3
36	NDUS3_BOVIN	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 3, mitochondrial	373.3813	6.011/24.937	6.55/30.284	1 x 3	0.002	+2.092/-2.092
37	ECHM_BOVIN	Enoyl-CoA hydratase, mitochondrial	4744.566	7.494/26.687	8.82/31.243	1 x 3	<0.05	Ausente em T1/Pres. em T3
38	A4IFI0_BOVIN	IGLL1 protein	1907.649	7.851/25.633	6.57 /24.764	1 x 3	<0.05	Ausente em T1/Pres. em T3
39	HSPB1_BOVIN	Heat shock protein beta- 1	8691.354	6.014/26.503	5.98/22.393	1 x 3	0.019	-1.957/+1.957
40	GSTM1_BOVIN	Glutathione S- transferase Mu 1	4325.362	8.154/27.797	6.91 /25.635	1 x 3	<0.05	Ausente em T1/Pres. em T3
41	APOA1_BOVIN	Apolipoprotein A-I	97.177	5.609/29.459	5.71/30.276	1 x 3	0.008	-1.331/+1.331

42	GPDA_BOVIN	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase [NAD(+)], cytoplasmic	4226.994	7.040/31.352	6.42/37.648	1 x 3	0.008	+3.539/-3.539
43	ESTD_BOVIN	S-formylglutathione hydrolase	1673.098	7.088/33.426	6.50/31.548	1 x 3	0.011	+2.330/-2.330
44	Q3T0Y1_BOVIN	Ubiquitin thioesterase	165.045	4.962/32.534	4.90/31.308	1 x 3	<0.05	Ausente em T1/Pres. em T3
45	ANXA2_BOVIN	Annexin A2	12006.37	7.379/36.433	6.92/38.612	1 x 3	0.011	+2.512/-2.512
46	CISY_BOVIN	Citrate synthase, mitochondrial	278.5565	7.403/45.433	8.16/51.773	1 x 3	0.001	+3.861/-3.861
47	AATC_BOVIN	Aspartate aminotransferase, cytoplasmic	73.0796	7.216/46.757	7.09/46.399	1 x 3	0.005	+2.229/-2.229
48	ENOA_BOVIN	Alpha-enolase	13881.89	6.882/48.119	6.37/47.326	1 x 3	0.038	+1.714/-1.714
49	FAAA_BOVIN	Fumarylacetoacetase	2573.386	7.274/46.981	6.49/46.156	1 x 3	0.024	+1.342/-1.342

50	ENOB_BOVIN	Beta-enolase	2685.114	7.940/50.721	7.60 /47.096	1 x 3	0.006	+2.352/-2.352
51	QCR1_BOVIN	Cytochrome b-c1 complex subunit 1, mitochondrial	216.6706	6.022/50.377	5.94/52.736	1 x 3	<0.05	Ausente em T1/Pres. em T3
52	TBB5_BOVIN	Tubulin beta-5 chain	4545.455	5.051/59.974	4.78/49.671	1 x 3	0.007	+2.036/-2.036
54	F1MDS3_BOVIN	Phosphoenolpyruvate carboxykinase 2, mitochondrial	6331.484	8.056/59.974	8.14/70.650	1 x 3	0.039	-1.572/+1.572
55	F1MGU7_BOVIN	Fibrinogen gamma-B chain	719.2107	5.50/59.974	5.44/50.232	1 x 3	0.015	+2.377/-2.377
56	A7E3Q2_BOVIN	Heat shock 70kDa protein 1A	2912.182	5.808/75.795	5.50/69.809	1 x 3	0.014	+2.748/-2.748
57	TRFE_BOVIN	Serotransferrin	2125.095	6.876/72.098	6.75/77.753	1 x 3	0.032	+1.124/-1.124
58	D4QBB3_BOVIN	Hemoglobin beta	12199.52	7.248/13.535	6.36 /15.979	1 x 4	0.003	+2.741/-2.741

59	ANXA8_BOVIN	Annexin A8	597.0711	5.458/29.240	5.30 /36.787	1 x 4	0.007	-1.365/+1.365
60	HBB_BOVIN	Hemoglobin subunit beta	1257.847	4.505/32.233	6.51/15.859	1 x 4	0.002	+4.705/-4.705
61	LDHB_BOVIN	L-lactate dehydrogenase B chain	8294.104	6.451/37.211	6.02/36.724	1 x 4	0.008	-1.286/+1.286
62	TPM2_BOVIN	Tropomyosin beta chain	3187.554	4.572/38.229	4.66/32.837	1 x 4	0.001	+7.670/-7.670
63	SAHH_BOVIN	Adenosylhomocysteinase	1138.828	6.388/46.001	5.88/47.638	1 x 4	0.038	-1.639/+1.639
64	F1MMK2_BOVIN	Glucose-6-phosphate 1- dehydrogenase	9651.418	6.980/62.315	6.91/62.414	1 x 4	0.038	-1.075/+1.075
65	F2Z4C1_BOVIN	Tubulin alpha chain	25628.35	5.157/59.383	4.94/50.136	1 x 4	0.019	-1.896/+1.896
66	A0A0A0MPA0_BOVIN	SERPIN domain- containing protein	553.8598	4.950/66.000	5.67/46.883	1 x 4	0.028	+1.291/-1.291
67	DHE3_BOVIN	Glutamate dehydrogenase 1, mitochondrial	1127.828	7.564/96.350	7.25/61.512	1 x 4	0.007	-1.407/+1.407

68	HS71A_BOVIN	Heat shock 70 kDa protein 1A	2396.702	5.969/79.574	5.67/70.259	1 x 4	0.002	-1.186/+1.186
69	ALBU_BOVIN	Albumin	16227.96	6.042/77.842	5.82/69.293	1 x 4	0.005	-1.298/+1.298
70	HS71B_BOVIN	Heat shock 70 kDa protein 1B	1076.53	5.595/70.374	5.67/70.228	1 x 4	0.026	+1.898/-1.898
71	TRFE_BOVIN	Serotransferrin	1063.485	6.649/82.697	6.75/77.753	1 x 4	0.047	-1.376/+1.376
72	ALBU_BOVIN	Albumin	16337.19	6.115/80.454	5.82/69.293	1 x 4	0.031	-1.354/+1.354
73	AATC_BOVIN	Aspartate aminotransferase, cytoplasmic	65.6366	8.306/41.385	7.09/46.399	1 x 4	0.017	Pres. em T1/ausente em T4
74	TRFE_BOVIN	Serotransferrin	8115.705	6.942/73137	6.75/77.753	1 x 4	0.003	-1.431/+1.431
75	PPIA_BOVIN	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	4905.037	8.854/16.377	8.34/17.869	1 x 4	0.016	Pres. em T1/ausente em T4

76	MLRS_BOVIN	Myosin regulatory light chain 2, skeletal muscle isoform	3080.732	4.888/17.382	4.88/19.013	1 x 4	0.006	Pres. em T1/ausente em T4
77	COF1_BOVIN	Cofilin-1	1759.846	8.787/18.057	8.16/18.519	1 x 4	0.003	Pres. em T1/ausente em T4
78	COF1_BOVIN	Cofilin-1	2005.095	8.974/18.230	8.16/18.519	1 x 4	0.009	Pres. em T1/ausente em T4
79	PSB6_BOVIN	Proteasome subunit beta type-6	334.4572	4.847/22.046	4.90/25.542	1 x 4	0.001	Pres. em T1/ausente em T4
80	NDUBA_BOVIN	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 beta subcomplex subunit 10	81.1925	9.604/21.213	8.74/20.965	1 x 4	0.007	Pres. em T1/ausente em T4
81	MYL1_BOVIN	Myosin light chain 1/3, skeletal muscle isoform	1858.34	5.104/21.323	4.96/20.932	1 x 4	<0.005	Pres. em T1/ausente em T4
83	QCR1_BOVIN	Cytochrome b-c1 complex subunit 1, mitochondrial	216.6706	6.022/50.377	5.94/52.736	1 x 4	0.037	Pres. em T1/ausente em T4
84	CYTB_BOVIN	Cystatin-B	455.1309	6.688/12.993	6.28/11.140	2 x 3	0.006	+2.809/-2.809

85	VIME_BOVIN	Vimentin	145.9588	4.820/27.821	5.05/53.728	2 x 3	0.038	-1.596/+1.596
86	LDHB_BOVIN	L-lactate dehydrogenase B chain	1106.789	6.287/34.033	6.02/36.724	2 x 3	0.003	+2.295/-2.295
87	DHE3_BOVIN	Glutamate dehydrogenase 1, mitochondrial	1129.936	7.330/51.209	7.25/61.512	2 x 3	0.030	+2.889/-2.889
88	GELS_BOVIN	Gelsolin	967.1118	5.922/94.693	5.54 /80.731	2 x 3	<0.05	Presente T2/ausente em T3
89	PPIA_BOVIN	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	10005.22	9.777/18.286	8.34/17.869	2 x 3	<0.05	Presente T3/ausente em T2
90	ADIPO_BOVIN	Adiponectin	260.9416	5.338/27.718	5.44/26.133	2 x 4	0.034	-1.291/+1.291
91	SODC_BOVIN	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	1557.858	5.919/16.974	5.85/15.683	2 x 4	<0.05	Presente T2/ ausente em T4
92	Q2KJ47_BOVIN	EH-domain containing 2	29.0398	5.167/17.768	5.95/61.217	2 x 4	<0.05	Presente T2/ ausente em T4
93	GSTP1_BOVIN	Glutathione S- transferase P	9373.032	5.201/24.119	6.89/23.613	2 x 4	<0.05	Presente T2/ ausente em T4

94	CRYAB_BOVIN	Alpha-crystallin B chain	470.4808	7.092/20.782	6.76/20.037	3 x 4	0.01	-1.571/+1.571
95	PSA3_BOVIN	Proteasome subunit alpha type-3	2540.812	5.338/27.718	5.19/28.405	3 x 4	0.026	-1.379/+1.379
96	ANXA1_BOVIN	Annexin A1	1522.675	6.953/37.175	6.37/38.952	3 x 4	0.001	-1.659/+1.659

A quantidade de processos biológicos (BP), função molecular (MF) e componentes celulares (CC) das proteínas identificadas divergiu entre os tratamentos experimentais. Considerando a distribuição dos top 20 níveis (*Gene Ontology* - GO), os BP, MF e CC foram identificados em maiores quantidades nos tratamentos 15WC (Figura 2) e 5WC (Figura 3). Menores distribuições de GO foram identificadas nos tratamentos 10WC e 0WC, conforme descrito nas Figuras 4 e 5, respectivamente.

Destacam-se BPs identificados no tratamento 15WC relacionados a metabólicos celulares (13), compostos nitrogenados (12), moléculas pequenas e de biossíntese (> 8). Processos divergentes foram observados em menores quantidades no tratamento 0WC, sendo os principais aqueles relacionados a substratos de metabolitos orgânicos (4), crescimento e regulação intracelular (2).

Com relação às MF, observou-se predominância no tratamento 15WC de proteínas transportadoras (14) e de ligação com lipídeos (4). Proteínas transportadoras também foram verificadas nos tratamentos 10WC e 0WC, mas em menor frequência (11 e 6, respectivamente). Já os CC identificados em nos tratamentos 15WC 10WC e 5WC foram bastante divergentes quando comparados ao tratamento 0WC. Nos primeiros destacam-se os CC de proteínas associadas a organização da estrutura celular, já no tratamento 0WC observou-se maior ocorrência CC cuja função é de formação de organelas e membranas.

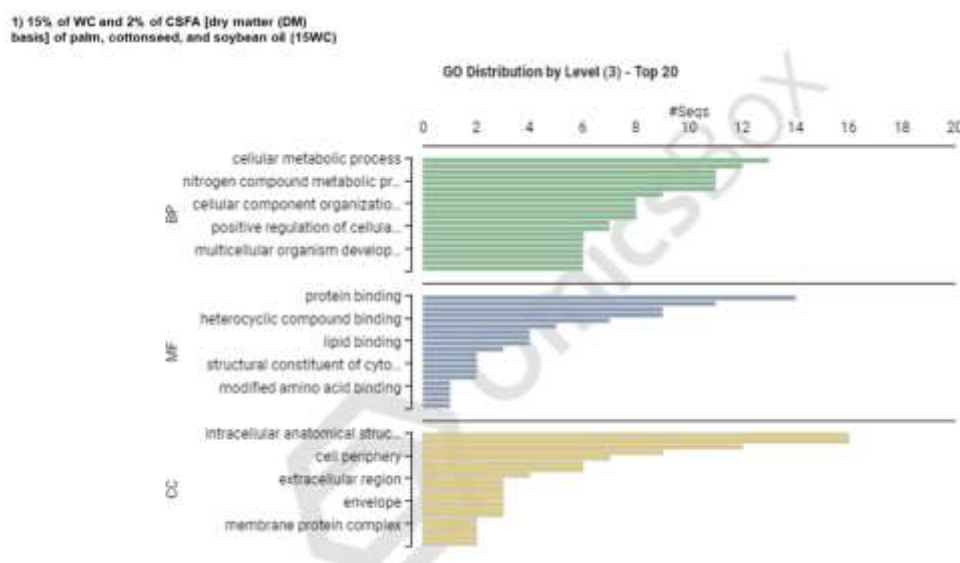


Figure 2

3) 5% of WC and 4% of CSFA (DM basis) of palm, cottonseed, and soybean oil (5WC)

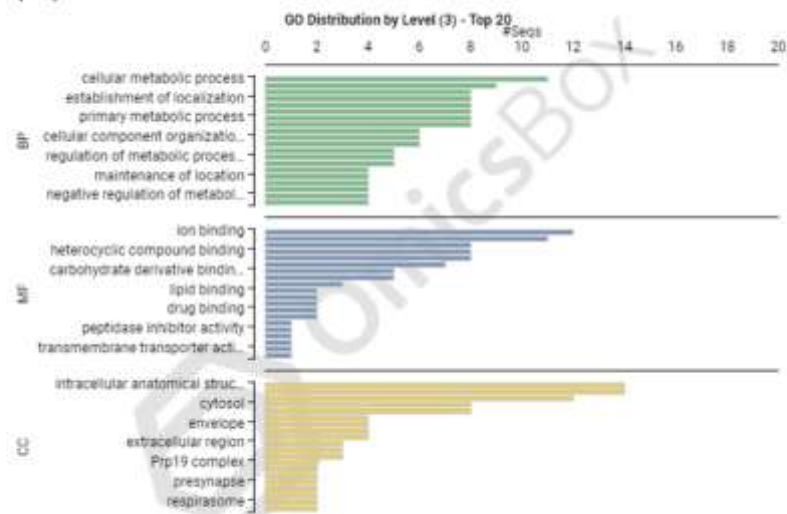


Figure 3

2) 10% of WC and 3% of CSFA (DM basis) of palm, cottonseed, and soybean oil (10WC)

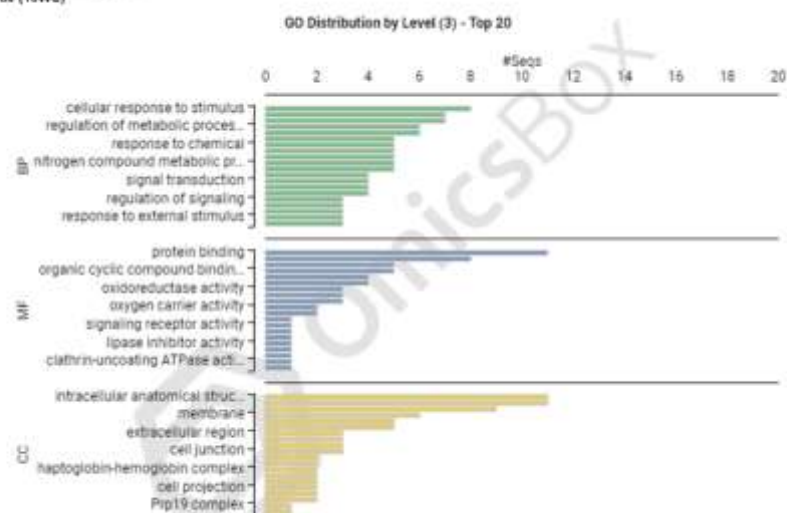


Figure 4

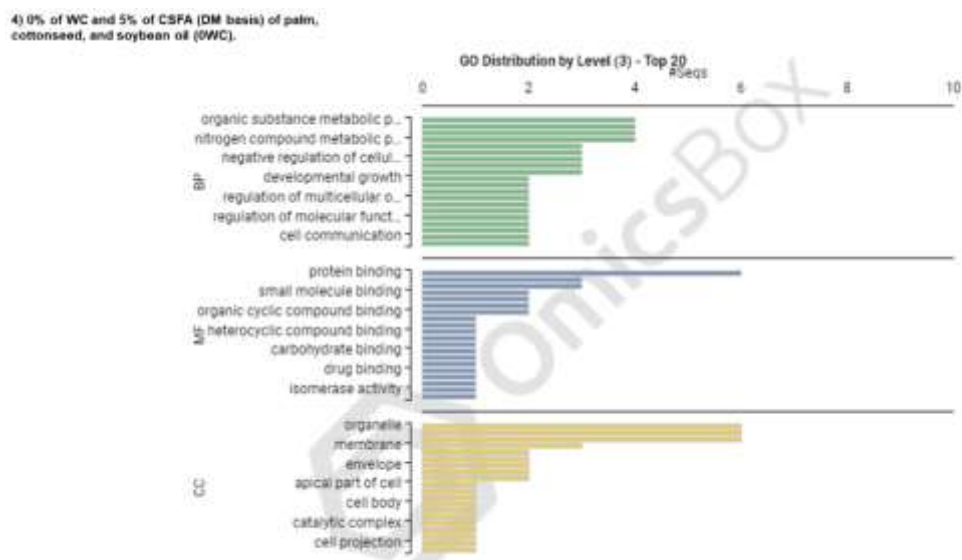


Figure 5

Identificou-se interações consistentes entre as proteínas caracterizadas nas amostras de tecido adiposo nos diferentes tratamentos experimentais. Três principais grupos (clusters) foram distinguidos no tratamento 15WC (Figura 6), sendo: proteínas do metabolismo energético (ALDOA, ALB, GAPDH e PGK1), proteínas do metabolismo lipídico (FABP4, ACAA2, HADH) e complexos proteolíticos (PSMD, PSMB, PSMC e PSMA).

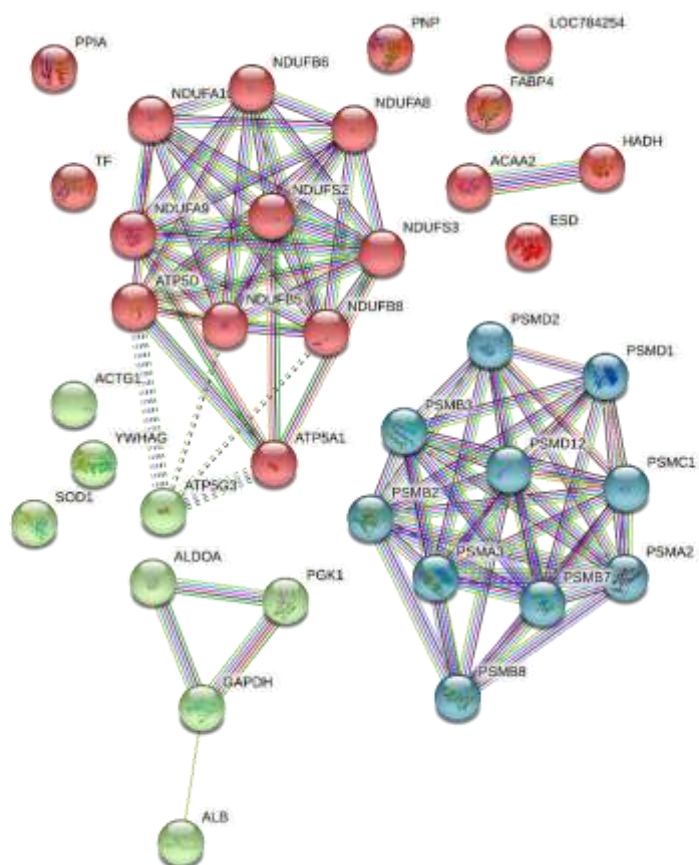


Figure 6

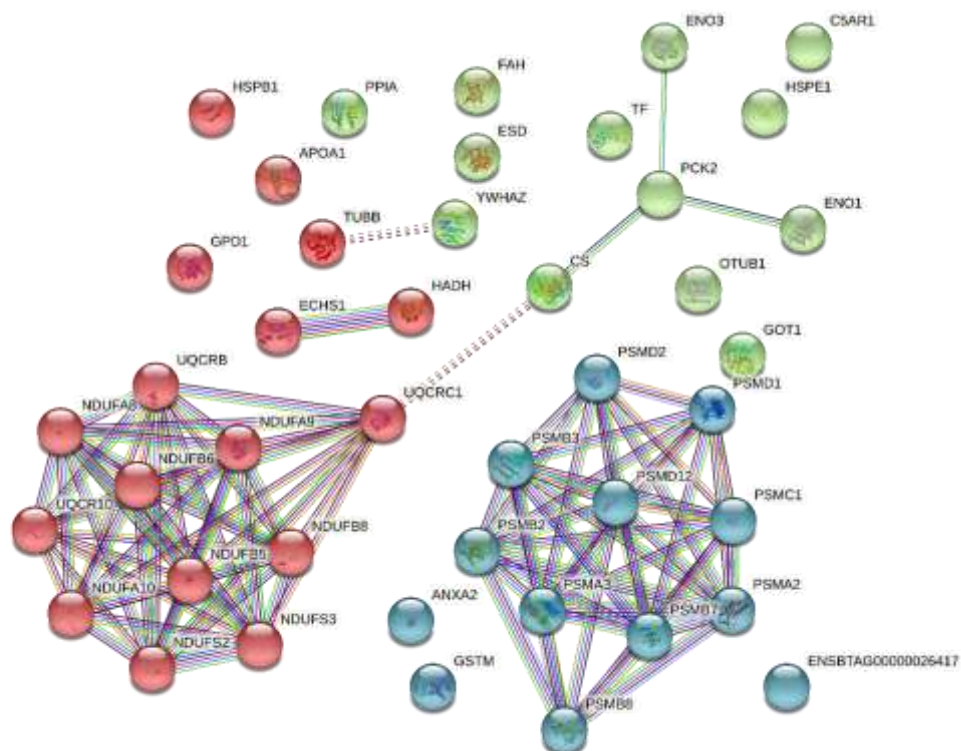


Figure 7

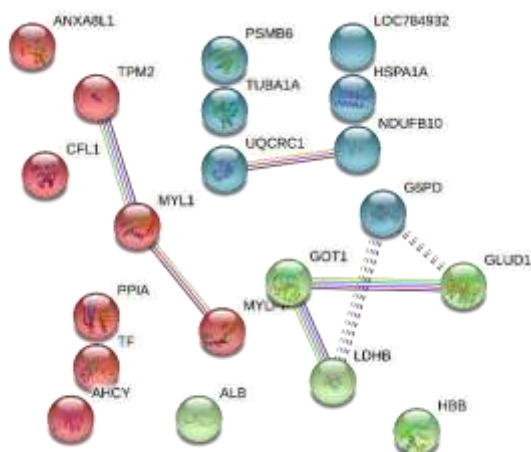


Figure 8

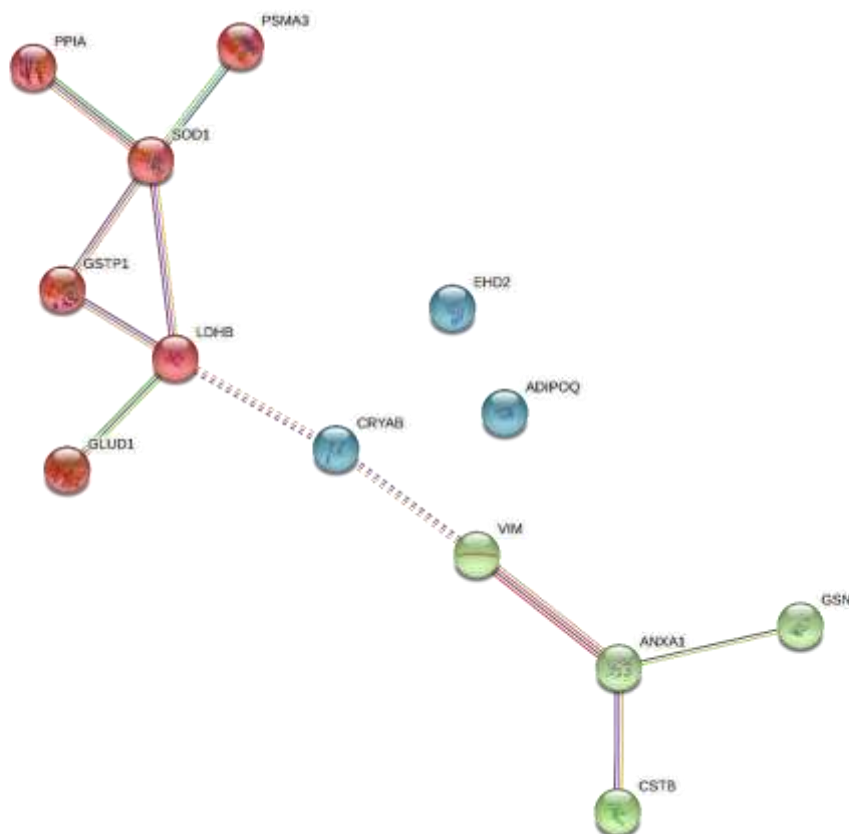


Figure 9

DISCUSSÃO

O principal objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da associação de diferentes níveis de CA e SCAG sob o desempenho, perfil metabólico, características de carcaça e da carne de bovinos *Bos indicus* durante o confinamento. Esse objetivo surgiu da hipótese de que a associação de CA (proteção física dos lipídios no interior da semente) e os SCAG (proteção química da esterificação dos ácidos graxos insaturados com sais de cálcio) possibilitaria um incremento nos níveis de EE da dieta sem afetar a fermentação ruminal e, conseqüentemente, melhorando o desempenho e as características de carcaça dos bovinos. Além disso, o teor elevado de AGI destes ingredientes poderia beneficiar a deposição de gordura intramuscular e tecido adiposo. Com base nisso, as dietas foram formuladas respeitando o que o CA de algodão fornece (FDN, PB e EE) para os animais quando incluso nas dietas de confinamento, para que possuísem fossem isoproteicas, isofibras, isocalóricas e isolipídicas, conforme mostra a Tabela 01. A inexistência de um tratamento controle somente com CA pode ser questionado no presente experimento, mas

essa estratégia foi adotada considerando que os benefícios e malefícios da inclusão elevada de CA já foi abordada por outros autores (Zinn., 1995; Cranston et al., 2006; Gouvêa et al., 2020) e que os níveis de CA adotados no presente experimento estão de acordo com as prática de nutricionistas e consultores brasileiros (Pinto and Millen, 2019). Além disso, essa possível associação entre CA e SCAG é escassa na literatura (Carvalho et al., 2020; Costa et al., 2020) e mais estudos para avaliar os benefícios de tal associação são garantidos.

A inclusão de ingredientes gordurosos na dieta altera o perfil nutricional do produto final. Pesquisas vem sinalizando que as alterações no perfil lipídico da carne devem ser com intuito de reduzir ácidos graxos saturados, principalmente C12:0 (Láurico), C14:0 (Mirístico) e C16:0 (Palmítico) pelos efeitos hipercolesterolêmicos e também o aumento da concentração dos ácidos graxos monoinsaturados, em especial o C18:1 *cis*-9 (Oleico), além de ser extremamente desejável o aumento do teor de PUFA e melhoria na relação n-6/n-3 (Howe et al., 2006). Outro ácido graxo que vem mostrando efeitos fisiológicos benéficos é o CLA (*cis*-9, *trans*-11; *trans*-10, *cis*-12), dentre os quais podem ser destacados os efeitos anticarcinogenicos e antilipogenicos (Huang et al., 2008).

Os diferentes níveis de associação afetariam o perfil lipídico da carne de C14:0 e C16:0, sendo encontrado um efeito quadrático com menor concentração desses AG com inclusão de 10% de CA, além da inclusão de CA reduzir de forma linear a deposição de C18:1 *cis*-9. Fatores como aumento linear na ingestão de PUFA e AG insaturado e, redução linear no consumo de MONO, ambos devido a inclusão de CA, mostrou como a associação predispôs os ácidos graxos a biohidrogenação, reforçando especulações anteriormente feitas sobre os níveis de biohidrogenação ocorrida nos tratamentos. A inclusão de CA não influenciou na deposição de PUFA, mas reduziu de forma linear a concentração de ácidos graxos insaturados, além da concentração de C18:0 no perfil da carne ter aumentado de forma linear com a inclusão de CA, se comportando de forma inversa da ingestão. Como as concentrações de CLA não se diferiram, podemos especular que o pH ruminal não reduziu e a inclusão de CA respeitando a sua concentração de fibra foi eficiente, diminuindo a incidência de biohidrogenação incompleta.

A oxidação de lipídios é uma das mudanças mais importantes que ocorrem durante o armazenamento de alimentos, pois pode afetar a cor, aroma, sabor, textura e até mesmo o valor nutritivo dos alimentos (Fernández, Pérez-Álvarez, & Fernández-López, 1997) . O método TBA, é o teste mais amplamente utilizado para medir a extensão da oxidação

lipídica em alimentos musculares. O teste TBARS quantifica os níveis de malonaldeído, um dos principais produtos da decomposição do hidroperóxido formado durante o processamento de oxidação de PUFA (Raharjo & Sofos, 1993), e permite estimar o desenvolvimento de ranço na carne. No entanto, o presente estudo não apresentou efeito nos valores de TBARS nos tempos de envelhecimento e quando realizada a interação entre os níveis de CA, mesmo ocorrendo aumento linear na ingestão de PUFA e AG insaturado e, redução linear no consumo de MONO, ambos devido a inclusão de CA. De acordo com Morrissey, Sheeny, Galvin, Kerry, & Buckley, (1998), embora os lipídios não saturados sejam desejáveis para os humano, com graus crescentes de insaturação lipídica, sua suscetibilidade à oxidação aumenta, o que dificulta a preservação da carne. De acordo com Djenane, Sánchez-Escalante, Beltrán e Roncalés (2001), Trout (2003) e McKenna et al. (2005), a taxa muscular de oxidação lipídica também pode atuar como um indicador do grau de suscetibilidade dos pigmentos de carne à oxidação, tendo em vista a estreita relação entre esses dois processos de oxidação.

Os dados de cor da carne são discutidos em relação aos efeitos do tempo de envelhecimento, pois a associação de SCAG e CA não afetou essas características. O aumento observado nos valores de L^* e b^* , recorrentes ao tempo de maturação da carne de animais consumindo diferentes associações de SCAG e CA pode ser atribuído ao aumento da formação de oximioglobina. Isso provavelmente foi devido à maior oxidação do pigmento de mioglobina causada pelo aumento da suscetibilidade à oxidação de lipídios do músculo LD desses animais, pois eles exibiam concentrações mais altas de ácidos graxos poliinsaturados. Os radicais gerados pela oxidação de lipídios podem promover o acúmulo de metamioglobina (Faustman, Sun, Mancini, & Suman, 2010; Mancini & Hunt, 2005; Trout, 2003), que pode ser reduzido de volta à forma de ligação de oxigênio enquanto o MRA está ativo. Porém, no ambiente degradativo e oxidativo do músculo com radicais livres formados na oxidação lipídica, o NADH se esgota mais rapidamente, reduzindo a atividade de MRA e levando ao acúmulo de metamioglobina. Esse fato é consistente com a afirmação de que o efeito da nutrição na cor da carne, especialmente o índice de vermelhidão (a^*) está associado à instabilidade dos pigmentos heme (Mancini & Hunt, 2005) nos produtos secundários (alfa e beta-aldeídos) da oxidação lipídica, causando a estabilidade diminuída da oximioglobina redox (Faustman, Liebler, McClure, & Sun, 1999; Lynch & Faustman, 2000). Por mais que não tenha sido

encontrado uma diferença no TBARS, isso pode ser um indicativo que alguns processos de oxidação lipídica estariam ocorrendo na carne.

Algumas pesquisas sugerem que AG influenciam na maciez e suculência, sendo mais propensos a serem afetados por quantidade total de ácidos graxos, do que pela sua individualidade (Wood et al. 2004), como mostra Westerling and Hedrick (1979) que maiores concentrações de MUFA refletem na palatabilidade da carne, sendo que maiores conteúdo de C18:1 *cis*-9, também influenciam. O reflexo desses AG no WBSF, estão ligados ao ponto de fusão dos ácidos graxos da carne, sendo que na medida que aumenta o insaturação, o ponto de fusão diminui. Mesmo o presente estudo apresentado que os OCA teve maior quantidade de MUFA e insaturação, o WBSF não apresentou efeito aumentando a maciez. Os valores observados no nosso estudo, foi inferior a 4,6 kg/cm² (Belew et al., 2003), consequentemente obtendo uma carne macia.

Recentemente, Sant'Anna et al. (2019) e Gómez et al. (2019), relataram que machos não castrados *Bos indicus* apresentam maior reatividade, resultando em maior suscetibilidade ao estresse, o que influencia de forma direta na coloração e pH, sendo a nível industrial desejado valores de pH>5,8 (Gallo e Huertas, 2016). Sendo assim, o prejuízo é maior quando antecipa o abate do animal, e o mesmo não conseguiu repor as reservas de glicogênio muscular, que posteriormente será utilizada na transformação do musculo em carne (Xing et al., 2018; Gesteira et al. 2019). Portanto, os nossos resultados elevados de pH podem ser atribuídos ao uso de machos não castrados, que tendem a apresentar um comportamento mais agressivo. Além disso, Apaoblaza et al. (2017) afirma que o jejum também pode ser um fator contribuinte para esse resultado, pois jejum de 24 horas antecedentes ao abate, podem reduzir as reservas de glicogênio muscular, podendo afetar uma redução do pH da carne post mortem. Dessa forma, podemos afirmar que a suplementação lipídica não influenciou na queda de pH, sendo o modelo animal utilizado o maior responsável, mas ao mesmo tempo é o que representa a maior porcentagem de animais confinados no Brasil, macho Nelore não castrado (Pinto & Millen 2018).

Três principais grupos (clusters) foram distinguidos no tratamento 15CA, sendo: proteínas do metabolismo energético (ALDOA, ALB, GAPDH e PGK1), proteínas do metabolismo lipídico (FABP4, ACAA2, HADH) e complexos proteolíticos (PSMD, PSMB, PSMC e PSMA). Sendo que a expressão de proteínas FABP4 que é uma proteína transportadora de ácidos graxos. De acordo com Jurie et al. (2007), uma maior concentração de triacilgliceróis circulando no sangue resulta em maior atividade da

enzima LPL, pode ativar o transportador de membrana FABP4, sendo assim as duas tem funções complementares. O teor de ácido graxo C18 na dieta e o teor de ácido esteárico no músculo de animais pode ser responsáveis pela maior expressão de LPL e FABP4 (Oliveira et al., 2014). Portanto, mesmo tendo maior expressão de proteínas ligadas ao metabolismo lipídico, em um trabalho complementar relataram que não houve influencia na disposição de tecido adiposo (Müller et al, 2021).

Conclusão

A associação de CA e SCAG não apresentou influencia na maturação da carne, coloração e pH. A expressão de proteínas ligadas ao metabolismo lipídico, foi observada no tratamento 15CA.

Referências

- Baldassini, W. A., C. P. Braga, L. A. L. Chardulo, J. A. I. V. Silva, J. M. Malheiros, L. G. De Albuquerque, T. T. Fernandes, and P. D. M. Padilha. 2015. Bioanalytical methods for the metalloproteomics study of bovine longissimus thoracis muscle tissue with different grades of meat tenderness in the Nellore breed (*Bos indicus*). *Food Chemistry*. 57:363–370. doi:10.1016/j.foodchem.2014.07.131.
- Gornall, A. G., C. J. Bardawill, and M. M. David. 1949. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *The Journal of Biological Chemistry*. 177:751–766. doi:10.5555/URI:PII:0022214349903054
- Carvalho, M. A., Cappellozza, B. I., Silva, B., Castro, T. S., Burim, M. R., & Cervieri, R. C. 2020. Supplementation with calcium salts of cottonseed oil improves performance of *Bos indicus* animals consuming finishing diets. *Translational Animal Science*. DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/skaa382>
- Cranston, J.J., Rivera, J.D., Galyean, M.L., Brashears, M.M., Brooks, J.C., Markham, C.E., McBeth, L.J., Krehbiel, C.R., 2006. Effects of feeding whole cottonseed and cottonseed products on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 84, 2186–2199. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-669>
- GOUVÊA, V. N. et al (2020). Effects of soybean oil or various levels of whole cottonseed on growth performance, carcass traits, and meat quality of finishing bulls. **Livestock Science**, 103934. doi:10.1016/j.livsci.2020.103934
- Nascimento, F. A. et al. Calcium salts of fatty acids with varying fatty acid profiles in diets of feedlot-finished *Bos indicus* bulls: impacts on intake, digestibility, performance, and carcass and meat characteristics. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 12, p. skaa382, 2020.
- ZINN, R. A. Characteristics of digestion of linted and lint-free cottonseed in diets for feedlot cattle. **Journal of animal science**, v. 73, n. 5, p. 1246-1250, 1995 <https://doi.org/10.2527/1995.7351246x>.
- Zinn, R. A., & Plascencia, A. (1993). *Interaction of whole cottonseed and supplemental fat on digestive function in cattle*. *Journal of Animal Science*, 71(1), 11–17. doi:10.2527/1993.71111x

- Zinn, R. A., Montaña, M., Alvarez, E., & Shen, Y. (1997). *Feeding value of cottonseed meal for feedlot cattle*. *Journal of Animal Science*, 75(9), 2317. doi:10.2527/1997.7592317x
- ZINN, R. A.; GULATI, S. K.; PLASCENCIA, A.; SALINAS, J. Influence of ruminal biohydrogenation on the feeding value of fat in finishing diets for feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, n. 7, p. 1738-1746, 2000.
- Zinn, R. A., F. N. Owens, and R. A. Ware. 2002. Flaking corn: Processing mechanics, quality standards, and impacts on energy availability and performance of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 80:1145–1156. doi:10.2527/2002.8051145x
- Allen, M. S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83:1598-1624. doi:10.3168/jds.S0022-0302(00)75030-2
- Allen, M. S., B. J. Bradford, and M. Oba. 2009. Board invited review: the hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. **J. Anim. Sci.** 87:3317–3334. doi:10.2527/jas.2009-1779.
- AMSA. American Meat Science Association. 1995. Research guidelines for cookery, sensory evaluation, and instrumental tenderness measurements of fresh meat. AMSA & National Livestock and Meat Board, Chicago.
- AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC.
- AOAC. 2007. Official methods of analysis. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- AOCS. 2009. Official methods and recommended practices. 7th ed. American Oil Chemists' Society, Urbana, IL
- Gallo, C., Huertas, S., 2016. Main animal welfare problems in ruminant livestock during preslaughter operations: a South American view. *Animal* 10, 357-364. doi: <https://doi.org/10.1017/S1751731115001597>
- Xing, T., Gao, F., Tume, R. K., Zhou, G., & Xu, X. (2018). *Stress Effects on Meat Quality: A Mechanistic Perspective*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. doi:10.1111/1541-4337.12417

Tabela 1. Composição e perfil nutricional das dietas oferecidas aos animais durante o período experimental.

	Crescimento				Terminação			
	0CA	5CA	10CA	15CA	0CA	5CA	10CA	15CA
<i>Ingredientes, g/kg MS</i>								
Silagem de Milho	270	220	150	140	230	160	130	100
Milho moído	580	604	659	643	619	671	683	690
Caroço algodão	0	50	100	150	0	50	100	150
Farelo de Amendoim	65	50	25	12	65	45	25	10
Ureia	10,5	10,5	10,5	10	10,5	10,5	10,5	10
Mixmineral-Vitamínico ⁴	25	25	25	25	25	25	25	25
Nutri Gordura ⁵	50	40	30	20	50	38	26	15
<i>Composição nutricional, g/kg MS</i>								
PB	155	155	155	155	155	155	155	155
EE	75	75	75	75	75	75	75	75
FDN	216	224	227	249	203	207	222	236
CNF	530	530	530	510	540	540	540	530
NDT ²	820	800	800	780	830	820	800	790
<i>Ácidos graxos, g/kg MS</i>								
C12:0	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3
C14:0	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4
C15:0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

C16:0	12,3	13,4	13,4	12,0	13,1	15,2	15,2	16,3
C16:1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
C17:0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2
C18:0	2,2	2,3	2,2	2,0	2,1	2,5	2,5	2,7
C18:1trans(n9)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
C18:1cis(n9)	16,5	17,3	16,0	13,9	15,7	18,4	18,9	20,7
C18:2cis(n6)	10,8	14,6	20,6	23,9	22,1	20,1	19,3	17,7
C18:3n3	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,5	0,3	0,4
C20:0	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3	0,4
C20:1(n9)	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
C20:3n6	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
C23:0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1
C24:0	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,4	0,3	0,4
Monoinsaturada	16,8	17,6	16,4	14,2	16,1	18,8	19,4	21,2
Poli-insaturada	11,3	15,2	21,0	24,3	22,6	20,8	19,7	18,4
Insaturadas	28,1	32,9	37,4	38,5	38,6	39,5	39,0	39,5
Saturadas	15,8	17,1	16,7	14,9	16,5	19,2	19,1	20,6
Trans	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2

Tabela 3. Características da carne de *Bos indicus* recebendo dietas contendo 0% de CA e 5% SCAG (**0CA**; n=6), 5% de CA e 4% SCAG (**5CA**; n=6), 10% de CA e 3% SCAG (**10CA**; n=6), 15% de CA e 2% SCAG (**15CA**; n=6), como fontes lipídicas e diferente períodos de maturação.¹

	Tratamento				EPM	Valor de P		
	0CA	5CA	10CA	15CA		Maturação	WC	Dieta x Maturação
TBA	0,24	0,20	0,20	0,19	0,026	0,14	0,63	0,20
pH	6,26	6,25	6,22	6,12	0,091	0,22	0,67	0,19
Perda por Cocção (%)	25,72	23,90	24,65	25,77	1,597	0,29	0,81	0,29
WBSF ^b (kg)	3,64	3,44	4,06	3,87	0,423	<0,01	0,75	0,14
<i>Coloração</i>								
L	36,23	36,53	35,22	36,08	0,639	<0,01	0,52	0,86
a	19,54	18,74	18,56	19,23	0,507	0,52	0,10	0,39
b	6,70	6,52	6,04	5,90	0,265	<0,01	0,12	0,89

L * = índice de luminosidade (0 = preto e 100 = branco); a * = intensidade da cor vermelha, índice que varia de verde (-)

a vermelho (+); b * = intensidade da cor amarela, um índice que varia de azul (-) a amarelo (+; Houben et al., 2000);

b WBSF = Warner–Bratzler Shear Force

Tabela 5. Perfil lipídico da carne de *Bos indicus* recebendo dietas contendo 0% de CA e 5% SCAG (**0CA**; n=6), 5% de CA e 4% SCAG (**5CA**; n=6), 10% de CA e 3% SCAG (**10CA**; n=6), 15% de CA e 2% SCAG (**15CA**; n=6), como fontes lipídicas.¹

	Tratamento				EPM	Valor de P		
	0CA	5CA	10CA	15CA		O v.s.CA	Linear	Quadrático
<i>Ácido graxo, % total AG</i>								
C10:0	0,07	0,08	0,07	0,07	0,01	0,69	0,55	0,31
C12:0	0,08	0,1	0,08	0,1	0,01	0,27	0,31	0,75
C14:0	3,4	3,35	3,13	3,77	0,16	0,92	0,2	0,05
C14:1 cis-9	0,72	0,87	0,61	0,62	0,09	0,87	0,18	0,42
C15:0	0,27	0,28	0,29	0,33	0,02	0,33	0,09	0,43
C15:1 cis-10	2,77	2,37	2,13	2,17	0,35	0,18	0,19	0,53
C16:0	27,59	26,37	25,97	27,89	0,52	0,15	0,82	0,01
C16:1 trans-9	2,93	2,89	2,41	2,02	0,22	0,12	0,01	0,44
C17:0	0,58	0,59	0,67	0,63	0,04	0,22	0,19	0,5
C17:1 cis-10	0,47	0,46	0,53	0,41	0,05	0,99	0,58	0,24
C18:0	12,18	12,22	13,18	14,68	0,84	0,27	0,05	0,4
C18:1 cis-9	34,57	33,37	35,37	29,06	1,79	0,37	0,09	0,18
C18:1 trans-9	3,87	3,29	3,56	3,14	0,31	0,12	0,17	0,81
C18:2 cis-9, trans-11	7,46	7,49	8,78	9,4	1,11	0,39	0,16	0,79
C18:2 cis-7, trans-9	0,18	0,12	0,11	0,1	0,02	0,03	0,04	0,39
C18:3 cis-9, cis-12, cis-15	0,44	0,24	0,29	0,32	0,04	<0,001	0,11	0,01
C20:0	0,08	0,07	0,08	0,08	0,01	0,27	0,92	0,26
C20:1	0,17	0,18	0,2	0,14	0,01	0,6	0,45	0,02
C20:2	0,17	0,15	0,16	0,17	0,03	0,87	0,83	0,66
C20:3	0,25	0,35	0,31	0,17	0,05	0,64	0,24	0,03
C20:4	1,30	1,43	1,31	1,42	0,22	0,72	0,8	0,95
C20:5	0,31	0,29	0,27	0,27	0,05	0,59	0,59	0,82
C21:0	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,31	0,02	0,4
C22:0	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,1	<0,01	<0,01
C22:1	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,06	0,03	0,53
C22:2	0,23	0,15	0,16	0,16	0,01	<0,001	<0,01	0,01
C23:0	0,12	0,1	0,11	0,12	0,02	0,7	0,9	0,55
CLA	7,63	7,58	8,86	9,48	1,12	0,43	0,19	0,77
Ômega 3	0,47	0,31	0,35	0,36	0,06	0,04	0,23	0,13
Ômega 6	8,45	7,49	8,77	9,36	1,05	0,94	0,36	0,45
Monoinsaturada	45,02	45,23	44,82	37,93	2,11	0,36	0,04	0,10
Poliinsaturada	11,7	10,23	11,46	11,96	1,25	0,74	0,72	0,45
Insaturada	55,41	55,45	56,28	51,21	1,18	0,40	0,04	0,05
Saturada	44,43	43,03	43,62	47,35	1,02	0,81	0,03	0,02

¹Dietas experimentais foram oferecidas por 108 dias;

Capítulo 3

Implicações

O uso de coproduto aumentou significativamente nos confinamentos, sendo importante o conhecimento da sua composição para poder melhor incluir na formulação. O caroço de algodão, com sua composição nutricional completa, se torna um ingrediente chave para formular, como foi mostrado nas dietas do presente experimento, a sua inclusão substitui parte de fontes de fibra (silagem de milho), proteína (farelo de amendoim) e suplementou EE junto com o SCAG. Dessa forma, forma pensando em disponibilidade de insumos e em confinamento de animais commodities, podemos utilizar qualquer uma dessas dietas, sendo o principal foco o econômico.

Além dos pontos nutricionais, a escolha dos animais para o presente experimento foi um ponto importante, pois foi representativo do que encontramos nos confinamentos comerciais. No entanto, seria necessária uma maior quantidade de animais e maior número de repetições para talvez encontrarmos diferenças significativas. Além disso, reduzir a diferença de peso vivo inicial entre os animais, sendo um fator que influencia na deposição de gordura subcutânea.