

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**COMBINAÇÕES DE ÓLEOS ESSENCIAIS, α -AMILASE E 25-
HYDROXIVITAMINA D₃ NO DESEMPENHO E CARACTERÍSTICAS DE
CARCAÇA DE BOVINOS F1 ANGUS-NELORE CONFINADOS**

MARIA BETÂNIA NIEHUES

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

**BOTUCATU – SP
2023**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**COMBINAÇÕES DE ÓLEOS ESSENCIAIS, α -AMILASE E 25-
HYDROXIVITAMINA D₃ NO DESEMPENHO E CARACTERÍSTICAS DE
CARÇA DE BOVINOS F1 ANGUS-NELORE CONFINADOS**

MARIA BETÂNIA NIEHUES
ZOOTECNISTA

Orientador: Prof. Dr^o. Mário De Beni Arrigoni
Co-orientador (a): Prof. Dr^a. Cyntia Ludovico
Martins
Prof. Dr^o. Danilo Domingues Millen

**BOTUCATU – SP
2023**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Niehues, Maria Betânia.

Combinações de óleos essenciais, α-amilase e 25-hydroxivitamina D3 no desempenho e características de carcaça de bovinos F1 Angus-Nelore confinados / Maria Betânia Niehues. - Botucatu, 2023

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

Orientador: Mário De Beni Arrigoni

Coorientador: Cyntia Ludovico Martins

Coorientador: Danilo Domingues Millen

Capes: 50403001

1. Bovinos - Carcaças. 2. Confinamento (Animais).
3. Aditivos alimentares. 4. Carne - Qualidade. 5. Essências e óleos essenciais.

Palavras-chave: Aditivos alimentares; Amido; Confinamento; Enzimas exógenas; Monensina sódica.

Aos meus avós paternos Juraci Carolina Niehues (Vó Dora) e Albino José Niehues (in memoriam).

Aos meus avós maternos Maria do Carmo de Lima e Neri Figueiredo.

Em especial as minhas avós, que sempre foram e sempre serão minhas fontes de inspiração e referência de mulheres fortes e guerreiras. Obrigada por todo suporte, educação e valores passados.

Aos meus pais Ivair Niehues e Vanuza dos Santos pela educação e valores passados, pois toda criança é uma folha de papel em branco escrita pelos pais. Vocês foram essenciais na construção do ser humano que hoje sou. Impossível medir o amor que sinto por vocês!

Aos meus irmãos Ulysses Brás Niehues, Diana Rosita Niehues e Amabili Vanessa Niehues, meus eternos companheiros de vida. Amo imensamente vocês!

Agradeço a todos vocês por estarem comigo em todos os momentos. Sempre foi e sempre será vocês (nós)!

Dedico

AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de agradecer à Deus por iluminar meu caminho, por estar sempre ao meu lado me dando força e coragem para ir em busca dos meus sonhos. A fé que tenho no Senhor foi combustível para minha persistência e força.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Mário De Beni Arrigoni, muito obrigada por ter me acolhido desde 2016 ainda no estágio curricular, por acreditar em mim e nas minhas capacidades. Obrigada ainda, por todas as portas abertas e oportunidades oferecidas.

À Prof^a. Dr^a. Cyntia Ludovico Martins pela co-orientação, pela confiança creditada em mim, pelo incentivo e apoio para a elaboração, realização e conclusão deste projeto. Obrigada por todo suporte desde o primeiro contato para a realização do estágio curricular em 2016 até a conclusão deste projeto de doutorado.

Ao Prof. Dr. Danilo Domingues Millen pela co-orientação e toda ajuda dispensada na elaboração, realização e conclusão deste projeto. Obrigada por prontamente me ajudar sempre que procurei.

Ao Prof. Dr. Otávio Rodrigues Machado Neto, por prontamente estar disponível todas as vezes que o procurei para tirar dúvidas.

À DSM *nutritional products*, por viabilizar e financiar este projeto. Agradeço em especial, aos colaboradores Alexandre Perdigão, Victor Valério de Carvalho e Tiago Sabella Acedo pelo apoio e confiança para a realização do experimento que deu origem a esta tese. Agradeço também, aos colaboradores do Centro de Inovação Tortuga, Reginaldo Roda Werdemberg e Josivaldo Pereira dos Santos por toda ajuda e persistência nos 102 dias de experimento.

A todos os colaboradores da Fazenda Caçadinha, que de alguma forma contribuíram para a realização deste projeto. Gostaria de agradecer especialmente ao Márcio Souza e Alexandre Matos (Canela), pela disponibilidade durante o experimento no manejo do curral e ronda sanitária dos animais. As cozinheiras do refeitório, principalmente a Dona Elaine Carmo, por preparar diariamente aquela comida gostosa que nos dava a sustância para seguirmos firmes e fortes. A Dona Nilza por sempre manter o ambiente dos alojamentos limpos e organizados.

Ao Tiago Rodrigues Portilho pelo companheirismo e amizade durante minha estadia na Fazenda Caçadinha.

A todos os estagiários, Julia Mara Campos, Mariana Marques, Bruno Cardoso e Matheus Cantóia, por toda ajuda durante as atividades diárias do confinamento experimental.

Ao Matheus Leonardi Damasceno (Gaúcho) e Thaiano Iranildo de Sousa Silva que embora também estivessem conduzindo experimento, sempre que tinham um tempinho ajudavam nas atividades deste experimento.

A todos os funcionários do frigorífico Marfrig de Bataguassu-MS pela paciência, colaboração e ajuda dispensada nas coletas das amostras no abate dos animais.

Aos colegas da pós graduação Daniel Gouvêa, Hugo Correa, Wellington Luiz, Ana Bárbara Sartor, Bismarck Moreira, Laís Tomaz Aquino e Vitória Ribeiro. Cada um de vocês contribuiu de alguma forma, seja nas coletas de amostra no frigorífico, nas análises de qualidade de carne e traslado de amostras ao laboratório.

À Dr. Carol Toledo Santos do Laboratório dos produtos de Origem Animal da FCA – UNESP, pelo apoio nas análises de composição química da carne.

Ao Leandro Alves dos Santos do Laboratório de Histotecnologia da UNIPEX/FMB-UNESP, pela ajuda na realização das análises de padrão de crescimento das fibras musculares.

À banca examinadora do meu exame de qualificação, Prof. Dr. Luis Artur Loyola Chardulo e ao Dr. Victor Valério de Carvalho pelas críticas construtivas e contribuição na tese, permitindo a melhora desse trabalho.

Aos membros da banca de defesa Prof. Dr. Flávio Augusto Portela Santos, Prof. Dr. Luis Artur Loyola Chardulo, Prof. Dr. Ricardo Kazama e Dr. Victor Valério de Carvalho, pela colaboração, pelas correções e sugestões.

À Gisele, por toda a disponibilidade e auxílio com as análises no Laboratório de Bromatologia da FMVZ – UNESP.

Ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia, em especial a Cláudia Cristina Moreci, e aos coordenadores, Prof. Dr. José Roberto Sartori e Profa. Dra. Margarida Maria Barros.

Aos funcionários do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal em especial a Andressa, pela atenção, ajuda e serviços prestados.

Aos demais professores e funcionários do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, Departamento de Produção Animal e de outras repartições da UNESP que colaboraram na minha formação ao longo desses anos.

À toda a equipe do Laboratório de Bioanálítica e Metaloproteômica – LBM, em especial Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha, ao Dr. José Cavalcante Souza Vieira e Otávio Augusto de Freitas Apostólico por toda ajuda dispensada de composição mineral da carne.

À toda a equipe do Laboratório de Ciência e Qualidade da Carne (LCQC), em especial Prof. Dr. Luis Artur Loyola Chardulo e Prof. Dr. Welder Angelo Baldassini por disponibilizar o laboratório para as análises de qualidade de carne.

Ao Núcleo de Estudos e Extensão em Bovinocultura de Corte (NERU) da UNESP-Dracena, por toda ajuda durante o abate, coleta e análises de morfologia ruminal. Muito obrigada Ana Carolina Janssen Pinto, Antônio Marcos Silvestre, Leandro Aparecido Ferreira da Silva, Breno Leite Demartini,

Kátia Lirian Rocha Souza, Jéssica Gomes Cardin, Werner Frederico Scheleifer e Vanessa Gomes Leonel Gasparini.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Por isso, gostaria de agradecer a CAPES pela bolsa concedida, vigência 07/2019 a 07/2022.

A todos que não foram citados e que de alguma forma contribuíram para a conclusão desse projeto.

MUITO OBRIGADA!

BIOGRAFIA DO AUTOR

Maria Betânia Niehues, nascida em 30 de agosto de 1994, na cidade de Urubici – SC, filha de Vanuza dos Santos e Ivair Niehues.

Em agosto de 2011 iniciou o curso de Zootecnia pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Câmpus de Florianópolis - SC, onde obteve o grau de zootecnista em fevereiro de 2017. Em 2014 realizou Mobilidade Estudantil, na Universidade Estadual de Maringá (UEM), Câmpus de Maringá - PR. Obteve o título de Mestre em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia na Universidade Estadual Paulista, campus de Botucatu em 2019, ano em que ingressou no Doutorado na mesma instituição, sob orientação do Prof. Dr. Mário De Beni Arrigoni e co-orientação da Prof. Dra. Cyntia Ludovico Martins e Prof. Dr. Danilo Domingues Millen.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Locais e mecanismos de ação dos componentes dos óleos essenciais na célula bacteriana. Adaptado de Burt et al., (2004).	18
Figura 2 - Uma cerca dividia a baia em duas áreas, onde de um lado se encontrava o bebedouro e do outro os cochos de alimentação. Ambos eram conectados por um corredor de passagem único, no qual a Plataforma de pesagem Bosch® estava fixada. 1 – Sombrite. 2 – Bebedouro. 3 – Corredor de passagem dos animais. 4 – Plataforma de pesagem. 5 – Cerca de divisão da baia. 6 – Cochos eletrônicos de alimentação do sistema Intergado.....	43
Figura 3 – Animais consumindo individualmente nos cochos de alimentação eletrônicos do sistema Intergado.	45
Figura 4 – Plataforma de pesagem Bosch instalada na baia do confinamento. 1 – Leitora de identificação. 2 – Painel solar. 3 – Unidade de processamento. 4 – Sensores de pesagem. 5 – Plataforma de pesagem. 6 – Brinco de identificação do animal.	49
Figura 5 – Área transversal média das fibras do músculo Logissimus Thoracis de bovinos F1 Angus-Nelore confinados. ^{abc} As médias que não possuem letras sobrescritas comuns são diferentes ($P \leq 0,05$). ¹ MON = monensina sódica (26 mg/kg MS); BEO+AM = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena (90 e 560 mg/kg MS, respectivamente); BEO+AM+HyD = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena + 25-hidroxivitamina D ₃ (25-(OH)D ₃) (90 e 560 mg/kg de MS e 1 mg/animal/dia, respectivamente); A monensina de sódica (Rumensin) era da Elanco Animal Health, Indianapolis, IN. A mistura de óleos essenciais (CRINA Ruminantes), as enzimas exógenas (α -amilase [Ronozyme RumiStar] e a 25-(OH)D ₃ (Rovimix Hy-D 1,25%) foram fornecidas pela DSM Produtos Nutricionais, Basel, Suíça.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ingredientes e conteúdo nutricional das dietas de terminação fornecidas aos animais durante o estudo.....	46
Tabela 2 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações no desempenho produtivo de bovinos F1 Angus-Nelore confinados.....	55
Tabela 3 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações na concentração de energia líquida observada da dieta de bovinos F1 Angus-Nelore confinados	56
Tabela 4 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações nas características de carcaça de bovinos F1 Angus-Nelore confinados.....	56
Tabela 5 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações nas medidas de ultrassonografia de carcaça de bovinos F1 Angus-Nelore confinados	57
Tabela 6 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações na qualidade de carne de bovinos F1 Angus-Nelore confinados.....	58
Tabela 7 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações na composição química da carne de bovinos F1 Angus-Nelore confinados	58
Tabela 8 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações no comportamento ingestivo de bovinos F1 Angus-Nelore confinados.....	59
Tabela 9 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações no pH ruminal de bovinos F1 Angus-Nelore confinados durante o período de adaptação	60
Tabela 10 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações no pH ruminal de bovinos F1 Angus-Nelore confinados durante o período total de alimentação	61
Tabela 11 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações na morfometria ruminal de bovinos F1 Angus-Nelore confinados.....	62
Tabela 12 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações nas concentrações séricas e musculares de cálcio, fósforo e 25-(OH)D ₃ de bovinos F1 Angus-Nelore confinados	63

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP – Adenosina Trifosfato
AGV – Ácido graxos voláteis
AGCC – Ácido graxos de cadeia curta
ANOVA – Análise de Variância
AOL – Área de olho de lombo
EGS – Espessura de Gordura Subcutânea
AM – Alfa-amilase
BEO – mistura de óleos essenciais
OE – Óleo essenciais
Ca – Cálcio
Ca²⁺ - Cálcio ionizado
P – Fósforo
CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior
CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
PB – Proteína bruta
EE – Extrato Etéreo
MS – Matéria seca
IMS – Ingestão de matéria seca
FDN – Fibra em Detergente Neutro
LRNS – Large Ruminant Nutritional System
MON – Monensina sódica
DIVMS – Digestibilidade *in vitro* da matéria seca
RC – Rendimento de carcaça
PCQ – Peso de carcaça quente
PCF – Peso de carcaça fria
PVi – Peso vivo inicial
PVF – Peso vivo final
EA – Eficiência alimentar
CA – Conversão alimentar
GPD – Ganho de peso diário
Na⁺ – Sódio
K⁺ – Potássio
H⁺ - Hidrogênio
HyD – 25-hidroxivitamina D₃
PRO – Protease
VM – Virginiamicina
FC – Força de cisalhamento

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	Utilização da monensina sódica na alimentação de bovinos de corte	15
2.1.1	Modo de ação da monensina sódica no ambiente ruminal	15
2.1.2	Efeitos da monensina sódica para bovinos confinados	17
2.2	Utilização de óleos essenciais na alimentação de bovinos de corte	18
2.2.1	Modo de ação dos óleos essenciais no ambiente ruminal.....	18
2.2.2	Efeitos dos óleos essenciais para bovinos confinados.....	20
2.3	Utilização de α -amilase exógena na alimentação de bovinos de corte	21
2.3.1	Modo de ação da enzima α -amilase exógena no ambiente ruminal	21
2.3.2	Efeitos da α -amilase exógena para bovinos confinados	22
2.3.3	Uso combinado de óleos essenciais e enzima α -amilase exógena para bovinos confinados	23
2.4	25-hidroxivitamina D ₃ no desempenho de bovinos confinados.....	24
2.4.1	Metabolismo da vitamina D e maciez da carne.....	24
2.4.2	Efeitos da 25-hidroxivitamina D ₃ para bovinos confinados	26
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

CAPÍTULO II

1	INTRODUÇÃO	41
2	OBJETIVOS	42
2.1	Objetivo geral	42
2.2	Objetivos específicos	42
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3.1	Animais e local experimental	42
3.2	Delineamento experimental.....	43
3.3	Manejo, arraçamento e cuidados com os animais.....	44
3.4	Manejo da ingestão de matéria seca e comportamento ingestivo dos animais.....	44
3.5	Mensuração contínua de pH rumino-reticular	47
3.6	Concentrações séricas de 25-(OH)D ₃ , cálcio total, cálcio ionizado e fósforo	47
3.7	Desempenho produtivo e características de carcaça	48
3.8	Energia líquida de ganho e manutenção.....	49
3.9	Incidência de rumenites e Abscessos hepáticos	50
3.10	Morfologia das papilas do rúmen.....	50
3.11	Determinação de cálcio e fósforo no tecido muscular	51
3.12	Histologia do tecido muscular	51

3.13	Análises de qualidade da carne	52
3.13.1	<i>Cor objetiva e pH</i>	52
3.13.2	<i>Força de Cisalhamento e Perdas por Cocção</i>	52
3.13.3	<i>Composição centesimal</i>	53
4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	53
5	RESULTADOS.....	54
5.1	Desempenho produtivo, características de carcaça e qualidade de carne	54
5.2	Comportamento ingestivo	54
5.3	Caractrísticas do pH ruminal.....	59
5.4	Morfometria Ruminal	61
5.5	Concentrações séricas e musculares de cálcio total, cálcio ionizado, fósforo e 25-(OH)D ₃	62
6	DISCUSSÃO	63
7	CONCLUSÃO	69
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

CAPÍTULO III

IMPLICAÇÕES.....	77
------------------	----

CAPÍTULO I

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A intensificação da cadeia produtiva de carne bovina no Brasil iniciou-se em meados da década de 80, com a implantação dos primeiros confinamentos. Segundo o ANUALPEC (2001), na década de 90 a atividade de confinamento continuou crescendo no Brasil e surgiram alguns confinamentos de grande porte (até 50 mil cabeças). No entanto, as margens econômicas da atividade se estreitaram muito e o bom desempenho técnico (ganho de peso e conversão alimentar) passou a ser determinante para a sua rentabilidade. Para isso, umas das estratégias adotadas pelos confinamentos foi investir em dietas mais quentes associadas com a inclusão de aditivos, destacando-se aqui os ionóforos.

Segundo levantamentos realizados junto a nutricionistas de confinamentos, a monensina sódica (MON) é o ionóforo mais utilizados nas dietas de terminação brasileiras (Oliveira e Millen, 2014; Pinto e Millen, 2019; Silvestre e Millen, 2021) e americanas (Samuelson et al., 2016), devido sobretudo as alterações na microbiota ruminal (Marques e Cooke et al., 2021) e aumento da eficiência alimentar (ELLIS et al., 2012; DUFFIELD et al., 2012). Contudo, o uso de agentes antimicrobianos como ionóforos em dietas de ruminantes está enfrentando restrições no mercado mundial de carne bovina, principalmente pela União Europeia, a qual adotou uma postura “preventiva” ao proibir em 2006 o uso desses aditivos em virtude do aparecimento de resíduos no leite e na carne, que podem impactar negativamente a segurança alimentar.

Diante disso, nos últimos anos são crescentes as pesquisas focadas em estratégias nutricionais, capazes de atuar de maneira semelhante aos ionóforos selecionando bactérias no ambiente ruminal ou ainda, capazes de promover o acréscimo de determinadas proteínas no tecido muscular e conseqüentemente aumentar o desempenho e a produção de carcaça dos animais. Resultados promissores foram observados para alguns aditivos alimentares como os óleos essenciais (OE), enzima α -amilase (AM) exógena ou ainda para a suplementação de 25-hidroxivitamina D₃ (25-(OH)D₃) (ACEDO et al., 2018; MESCHIATTI et al., 2019; GOUVÊA et al., 2019).

Na literatura, poucos estudos foram desenvolvidos com bovinos confinados suplementados com OE. Mas as pesquisas disponíveis revelaram resultados positivos e muito promissores com a suplementação de uma mistura de óleos essenciais (BEO) no desempenho produtivo dos animais (ORNAGHI et al., 2017; DE SOUZA et al., 2018; MESCHIATTI et al., 2019). Em uma meta-análise realizada por Khiaosa-Ard e Zebeli (2013), para avaliar os efeitos da suplementação com OE para ruminantes, relataram que os OE têm grande potencial como modificadores da fermentação ruminal e melhoradores de desempenho.

A adição de AM foi proposta para aumentar o desempenho pelo aumento da utilização de amido da dieta. DiLorenzo et al. (2011), não observaram diferenças no desempenho e digestibilidade do amido em bovinos suplementados com AM exógena. Por outro lado, estudos com vacas leiteiras relataram aumento da produção de leite, melhor conversão da dieta em leite e aumento da digestibilidade dos nutrientes da dieta (TRICARICO et al., 2005; GENCOGLU et al., 2010; ANDREAZZI et al., 2018).

A suplementação com 25-(OH)D₃ aumenta a produção de carcaça (Acedo et al., 2018; Carvalho e Perdigão, 2019), via melhoria da síntese de proteínas musculares (Birge e Haddad, 1975; Martins et al., 2020) aumentando desta forma, o rendimento muscular por meio da hipertrofia das fibras musculares (HUTTON et al., 2014). Estudos com frangos de corte suplementados com 25-(OH)D₃, demonstraram que a suplementação de 25(OH)D₃ tem efeitos na proliferação e desenvolvimento do tecido muscular (VIGNALE et al., 2015).

Diante das pesquisas acima conduzidas, é notório que tem-se disponível aditivos alimentares alternativos capazes de garantir a sustentabilidade dos sistemas produtivos e a segurança alimentar, preceitos estes, cada vez mais exigidos pela crescente população mundial. Sendo assim, é previsível que somente com a adoção de tecnologias seja possível promover saltos na produção, na qualidade e na segurança alimentar no Brasil e no mundo. No entanto, são escassas as pesquisas avaliando a utilização desses aditivos e suas combinações no desempenho produtivo de bovinos confinados. Por isso, mais estudos precisam ser realizados para conseguirmos alavancar a implementação desses aditivos nas dietas de terminação, apoiando a produção sustentável da cadeia produtiva brasileira de carne bovina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Utilização da monensina sódica na alimentação de bovinos de corte

2.1.1 Modo de ação da monensina sódica no ambiente ruminal

A MON é um ionóforo poliéter carboxílico produzido por uma cepa natural de *Streptomyces canelaensis* (HANEY e HOEHN, 1967). O modo básico de ação da MON é modificar o movimento de íons através das membranas biológicas (Schelling, 1984), pois os ionóforos são moléculas altamente lipofílicas (Pressman e Deguzman, 1975) e sua ligação as membranas celulares bacterianas é determinada em parte, pela estrutura da parede celular (Weimer et al, 2008), onde as bactérias Gram negativas (Gram -) são mais resistentes a MON devido ao seu envoltório celular ser constituído por uma parede celular e uma membrana externa de proteção, enquanto as Gram positiva (Gram +) não possuem membrana externa para proteger a membrana celular, e por isso, são sensíveis à MON (RUSSELL e STROBEL, 1989).

Em condições normais as bactérias contêm concentrações muito mais altas de soluto do que no ambiente externo, preservando um ambiente mais alcalino com alta concentrações de K⁺ e baixa de Na⁺ intracelular (MARQUES e COOKE, 2021). Por outro lado, o ambiente ruminal contém alta concentrações de Na⁺ e baixa K⁺, e pH levemente ácido devido às concentrações de AGCC. Assim, para manter um ambiente intracelular saudável, as bactérias do rúmen dependem do equilíbrio do gradiente de íons entre Na⁺ e K⁺ (RUSSELL E STROBEL, 1989). Os ionóforos são substâncias capazes de interagir com íons metálicos, servindo assim como um transportador desses íons através da membrana lipídica celular (OVCHINNIKOV, 1979).

O ciclo de transporte inicia-se com a forma aniônica do ionóforo ligado a membrana celular bacteriana, onde é estabilizado pelo ambiente polar da superfície. A ligação a um cátion inicia a formação de um complexo lipofílico cátion - ionóforo que pode se difundir através do interior da membrana celular. A MON medeia principalmente a troca de Na^+ e H^+ porque sua afinidade pelo Na^+ é dez vezes maior que a do K^+ (PRESSMAN, 1976).

Desta forma, ao adicionar MON à dieta, esta se liga a membrana lipídica das bactérias do rúmen, diminuindo a concentração de K^+ e o pH e aumentando a concentração de Na^+ intracelular. Assim, as bactérias Gram+ são forçadas a ativar as bombas de Na^+/K^+ ATPase para expulsar prótons para fora da célula com gasto de 1 ATP/próton. Essa ação combinada com a baixa concentração de K^+ esgotam as reservas energéticas (ATP) intracelular, no qual as bactérias acabam morrendo ou assumem um nicho microbiano sem expressão ruminal (MARQUES E COOKE, 2021; RUSSELL, 1987; BOOTH, 1985).

De modo geral, as bactérias sensíveis aos ionóforos são predominantemente Gram+ produtoras de ácido acético, ácido butírico, ácido lático e metano. Já as bactérias resistentes aos ionóforos são Gram- que tendem a ser produtoras de succinato e propionato. Essas diferenças entre as bactérias sensíveis ou resistentes, se devem principalmente às distinções inerentes a estrutura da parede celular (Azzaz et al., 2015), como supracitado.

Sendo assim, a MON ao inibir seletivamente as bactérias Gram+ causa diversos impactos no metabolismo dos ruminantes, incluindo aumento na eficiência do metabolismo energético, melhora no metabolismo do nitrogênio e redução dos casos de timpanismos e riscos de acidose lática (BERGEN e BATES, 1984). A MON altera a proporção de ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen, levando a um aumento da produção de ácido propiônico e redução nas concentrações de ácido acético e butírico (RICHARDSON et al., 1976). O propionato é usado na gliconeogênese (DUFFIELD et al., 2008), além de ser oxidado pelo ciclo do ácido cítrico, proporcionando assim, vantagens energéticas significativas para o ruminante (SCHELLING, 1984).

A acidose é um distúrbio nutricional resultante do consumo excessivo de carboidratos facilmente fermentescíveis no rúmen. Denis et al. (1981), demonstraram *in vitro* que o crescimento das principais bactérias produtoras de lactato, *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus sp.* foi inibido pela MON. Da mesma forma, bovinos infundidos com glicose intraruminal e tratados com MON tiveram contagens reduzidas desses dois microorganismos, menores concentrações de lactato ruminal e maior pH ruminal em comparação com controle (Nagaraja et al., 1981, 1982), sugerindo que a MON tem potencial para controlar o pH ruminal e evitar casos de acidose lática.

Diante disso, ionóforos como a MON, estão sendo utilizados há mais de 50 anos na alimentação de bovinos, devido aos seus impactos positivos ocasionados pelo modo de ação básico na função ruminal, que representam potenciais que podem influenciar no desempenho animal. Por isso, muitas pesquisas foram publicadas visando avaliar os efeitos da MON no desempenho e eficiência alimentar de bovinos confinados, assunto este que iremos abordar no próximo tópico.

2.1.2 Efeitos da monensina sódica para bovinos confinados

A MON obteve aprovação em 1975 pela *Food and Drug Administration* para uso na alimentação de bovinos confinados no intuito de mudar a população ruminal e melhorar a eficiência alimentar (RUSSELL e STROBEL, 1989). Desde então, a MON é extensivamente utilizada como aditivo nas dietas de terminação brasileiras, como também americanas. Conforme pesquisa realizada por Silvestre e Millen (2021), nos confinamentos brasileiros 86,1% dos nutricionistas recomendam a inclusão de MON nas dietas de terminação, estando de acordo com Samuelson et al. (2016), que relatou que a MON é o aditivo alimentar mais comumente utilizado nas dietas de terminação em confinamentos americanos.

Estas pesquisas supracitadas são suportadas por mais de 50 anos de pesquisas focadas principalmente no efeito da MON no desempenho de bovinos confinados. Por exemplo, estudos descobriram que a MON melhorou significativamente a eficiência alimentar (EA) (Steen et al, 1978; Horton et al, 1981), enquanto outros estudos não encontraram efeitos significativos na EA (HORTON, 1984; YANG et al., 2010). Em uma meta-análise realizada por Duffield et al. (2012), a MON diminuiu consistentemente a ingestão de matéria seca (IMS) em 3,1% e aumentou o ganho de peso diário (GPD) em 2,5%, consequentemente aumentando a EA dos animais. Da mesma forma, Goodrich et al. (1984), reuniram dados de 228 experimentos envolvendo 11.274 bovinos alimentados com dietas controle ou dietas contendo MON. Os autores relataram que os animais alimentados com MON apresentaram GPD 1,6% maior e consumiram 6,4% menos que os animais controle, obtendo desta forma, melhoria de 7,5% na EA para os animais alimentados com MON. Esses resultados concordam com a meta-análise realizada por Tedeschi et al. (2003), onde a dose de 28 ppm de MON resultou em aumento de 1,6 a 1,8% no GPD, diminuição de 4 a 6% na IMS e melhoria de 6 a 7,5% na conversão alimentar (CA) de bovinos confinados na fase de crescimento.

Apesar das respostas positivas obtidas com a suplementação de MON para bovinos confinados, a União Européia proibiu o uso de antibióticos e coccidiostáticos como aditivos alimentares para bovinos. Diante disso, é crescente a busca para encontrar aditivos alimentares capazes de melhorar a taxa, eficiência e/ou qualidade do ganho, o desempenho, prevenir certos distúrbios metabólicos e ainda manter a segurança alimentar.

Por isso, atualmente é crescente as pesquisas para alcançar alguns ou todos os objetivos supracitados por meio da manipulação dos microrganismos ruminais ou por meio da modulação da expressão genética, adicionando nas dietas alguns aditivos alimentares, como óleos essenciais derivados de plantas, enzimas exógenas, vitaminas, tampões, hormônios anabólicos, aminoácidos sintéticos ou ainda suplementos alimentares microbianos. Nos próximos tópicos aprofundaremos sobre a utilização de aditivos alimentares como os óleos essenciais, AM exógena e vitaminas, mais especificamente 25-(OH)D₃, para bovinos de corte em confinamento.

2.2 Utilização de óleos essenciais na alimentação de bovinos de corte

2.2.1 Modo de ação dos óleos essenciais no ambiente ruminal

A atividade antimicrobiana bem documentada dos OE e seus componentes ativos levou muitos pesquisadores a avaliar o potencial desses metabólitos secundários para manipular a fermentação microbiana do rúmen e melhorar a eficiência da produção de ruminantes (BENCHAAR et al., 2007). Alguns exemplos de OE incluem timol, limoneno, eugenol, vanilina, cinamaldeído e capsaicina (PUKROP et al., 2019). Os OE são metabólitos secundários naturais que podem ser extraídos dos tecidos vegetais por destilação a vapor e/ou água (CALSAMIGLIA et al., 2007). A maioria dos OE é uma misturas de mono e sesquiterpenos (por exemplo, α -terpineol e pulegona) e fenólicos ou monofenóis biogenicamente relacionados (por exemplo, timol, carvacrol e eugenol), (HUMMELBRUNNER e ISMAN, 2001).

Devido ao grande número de constituintes presentes na composição dos OE, acredita-se que sua atividade antimicrobiana não esteja atribuída a um mecanismo específico e sim a vários alvos na célula (CARSON et al., 2002). Na meta-análise realizada por Burt et al. (2004), os autores propõem alguns possíveis mecanismos de ação antimicrobiano dos óleos essenciais na célula bacteriana (Figura 1).

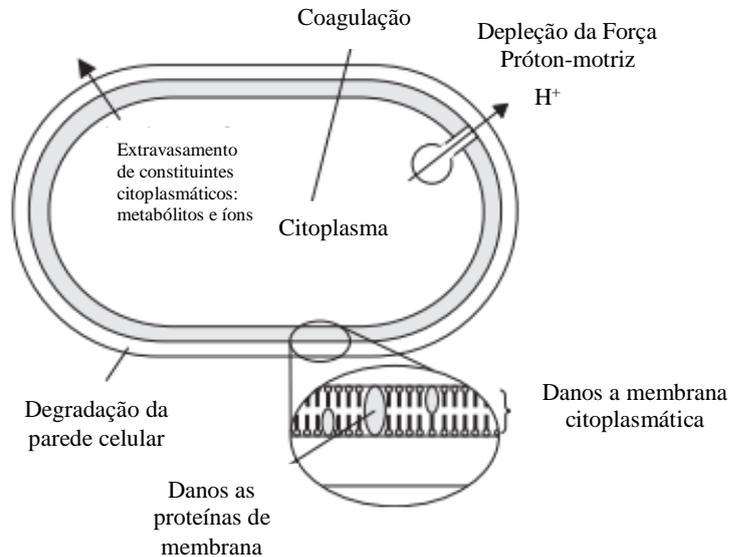


Figura 1 - Locais e mecanismos de ação dos componentes dos óleos essenciais na célula bacteriana. Adaptado de Burt et al., (2004).

Os OE e seus componentes são lipofílicos, permitindo-lhes atravessar a parede celular e a membrana citoplasmática, rompendo a estrutura de suas diferentes camadas de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolipídios, tornando-os desta forma, mais permeáveis (BAKKALI et al., 2008). Várias pesquisas mostram que a permeabilização da membrana celular bacteriana está associada a redução do potencial de membrana, danos às proteínas de membrana, ocorrendo a perda de íons, colapso da bomba

de prótons, depleção do pool de ATP (JUVEN et al., 1994; SIKKEMA et al., 1994; HELANDER et al., 1998; ULTEE et al., 2002; DI PASQUA et al., 2006; TURINA et al., 2006), interrompendo o transporte ativo e levando a coagulação do conteúdo celular (SIKKEMA et al., 1995; DAVIDSON, 1997), todas essas alterações fisiológicas podem resultar em lise e morte celular (TURINA et al., 2006). Essa atividade antimicrobiana dos OE deve-se especialmente à presença de fenóis, aldeídos e álcoois (SACCHETTI et al., 2005).

Assim como descrito a cima, várias pesquisas indicaram um efeito semelhante ao da MON na fermentação ruminal (Calsamiglia et al., 2007), inibindo bactérias Gram + (HOOK et al., 2010; NAZZARO et al., 2013). De acordo com Nikaido (2003), a membrana externa das bactérias Gram- contém lipopolissacarídeos hidrofílicos (LPS), que formam uma barreira contra macromoléculas e compostos hidrofóbicos, proporcionando a essas bactérias maior tolerância a compostos antimicrobianos hidrofóbicos como os encontrados em OEs. McIntosh et al. (2003), relataram diminuição significativa na taxa de produção de amônia no líquido ruminal de vacas leiteiras fistuladas no rúmen, alimentadas com 1 g/dia de uma mistura de óleos essenciais (BEO). Segundo os mesmos autores, bactérias gram-positivas “hiperprodutoras de amônia” como *Clostridium sticklandi* e *Peptostreptococcus anaerobius*, se mostraram muito sensíveis à adição de um BEO à dieta. Wallace et al. (2002), também relataram que bactérias “hiperprodutoras de amônia” e a produção de amônia diminuíram em ovelhas alimentadas com BEO.

Em uma meta-análise incluindo 34 experimentos *in vivo* relataram que os OE não tiveram efeito sobre o pH ruminal, independente da dose utilizada. Por outro lado, os animais suplementados com OE apresentaram redução em 12% na produção de metano e aumento na porcentagem molar de propionato (KHIAOSA-ARD e ZEBELI, 2013). Khorrami et al. (2015) e Meschiatti et al. (2019), também observaram um aumento nas proporções molares de propionato em bovinos suplementados com OE, no entanto o pH ruminal não foi alterado pela suplementação de OE em comparação com o tratamento controle ou MON, respectivamente. Esses resultados estão de acordo com estudos anteriores para bovinos de corte consumindo dietas de alto concentrado suplementados com OE, os quais não detectaram diferenças no pH ruminal em comparação com a MON (GOUVÊA et al., 2019; TOSETI et al., 2020; DEVANT et al., 2007; MEYER et al., 2009; GERACI et al., 2012). Por outro lado, Benchaar et al. (2006) realizou um estudo *in vivo* utilizando vacas Holandesas em lactação fistuladas no rúmen suplementadas com OE (CRINA Ruminants; Akzo Nobel Surface Chemistry Ltd. Suíça), adicionando ou não MON. A suplementação com OE aumentou (6,50 vs. 6,39) o pH ruminal das vacas independente da adição de MON.

A atividade antimicrobiana dos OE depende do pH do ambiente ruminal (Cardozo et al., 2005), podendo afetar o potencial de interação entre os diferentes OE presentes nos blends (FANDIÑO, et al., 2020). Segundo Casamiglia et al. (2007), a combinação de OE pode resultar em efeitos aditivos ou sinérgicos, devido aos seus diferentes mecanismos de ação. No entanto, poucos estudos foram conduzidos com produtos comerciais disponíveis no mercado utilizando uma combinação de diferentes

OE (CRINA® *Ruminants*; DSM Produtos nutricionais, Basel, Suíça; AGOLIN®, Agolin Sa, Suíça; XTRACT®, Pancosma, Suíça), por isso faltam evidências de seus efeitos aditivos ou sinérgicos no ambiente ruminal, principalmente de bovinos confinados consumindo dietas de alto teor de concentrado.

Como pode-se observar, os resultados da suplementação com OE sobre o pH ruminal ainda são inconsistentes e apesar de existirem poucos relatos sobre os efeitos dos OE na fermentação ruminal de bovinos confinados, os estudos supracitados com vacas leiteiras nos dão evidências interessantes que os OE podem ser uma alternativa aos ionóforos para controlar o pH ruminal e reduzir os riscos de acidose quando os animais são alimentados com dietas quentes.

2.2.2 Efeitos dos óleos essenciais para bovinos confinados

Pesquisas relacionadas ao uso de aditivos naturais na nutrição de ruminantes ganharam força nos últimos anos, devido principalmente à crescente demanda da população por sistemas de produção sustentáveis e segurança alimentar. Entre os aditivos naturais disponíveis para utilização na dieta de bovinos confinados, destacam-se os OE. Apesar de escassos, alguns estudos recentes relataram resultados positivos da inclusão de BEO no desempenho e produção de carcaça de bovinos confinados.

Ornaghi et al. (2017), avaliaram a suplementação de diferentes OE no desempenho, característica de carcaça e comportamento ingestivo de bovinos confinados. Os autores observaram maior IMS, peso vivo final (PVF), GPD e peso de carcaça fria (PCF) para os animais alimentados com OE e aumentaram linearmente quando comparada à dieta controle, sem diferenças para a EA. Em relação ao comportamento ingestivo os autores não observaram efeitos entre os tratamentos. De Souza et al. (2018), também avaliaram a influência dos OE e suas misturas no desempenho e comportamento ingestivo de novilhas terminadas em confinamento, onde observaram maior IMS e GPD para os animais alimentados com uma mistura de OE, sem diferenças para o comportamento ingestivo.

Meschiatti et al. (2019), avaliaram a suplementação de 90 mg/kg de MS de um BOE (CRINA® *Ruminants*, DSM Produtos Nutricionais, Basel, Suíça) em comparação com a MON (Rumensin - Elanco Animal Health, Indianapolis, IN), fornecida na dose de 26 mg/kg de MS. Os autores observaram que os animais alimentados com BOE consumiram 0,590 g a mais de MS em comparação ao tratamento MON. Embora não tenham observado efeito para as demais variáveis de desempenho, os animais alimentados com BOE apresentaram 10 kg a mais de PVF e ganharam 7 kg a mais PCQ, em comparação ao grupo MON.

Monteschio et al. (2017), confinaram 40 novilhas Nelores para avaliar o efeito de OE ou BEO na qualidade de carne. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em uma das cinco dietas de terminação: **1) CON:** sem OE; **2) ROS:** OE de alecrim (4 g/animal/dia); **3) BLE:** eugenol, timol e vanilina (4 g/animal/dia); **4) BCL:** BLE (2 g/animal/dia) + OE de cravo (2 g/animal/dia); e, **5) BRC:** BLE (1,33 g/animal/dia) + OE de alecrim (1,33 g/animal/dia) + OE de cravo (1,33 g/animal/dia). A adição de ROS ou BEO não afetou as características da carne como pH, espessura de gordura subcutânea

(EGS), pontos de marmoreio e área de olho de lombo (AOL) ou ainda, perdas no descongelamento e gotejamento. No entanto, observaram que a adição de ROS ou BEO levou a uma redução na degradação da cor ao longo do tempo (valores de L^* e Chroma). Além disso, os animais suplementados com BCR apresentaram menor força de cisalhamento (FC) ao longo do tempo.

Da mesma forma, Rivaroli et al. (2016) avaliaram o efeito da suplementação de BEO na qualidade de carne de bovinos confinados em um dos três tratamentos: **1)** E0,0: sem adição de BEO; **2)** E3,5: com 3,5 g/animal/dia de BEO (MixOil®, Animal Wellness Products (A.W.P.™), Oakland, Nebraska, EUA); e **3)** E7,0: com 7 g/animal/dia de BEO. Os autores relataram, que a adição de BEO às dietas não afetou ($P > 0,05$) o pH final (24h), composição química da carne e as perdas por descongelamento e cozimento. Por outro lado, animais suplementados com E3,5 apresentaram valor de vermelhidão (a^*) maior que os animais E7,5. Além disso, a adição de BEO não modificou a FC em relação ao controle, no entanto, a inclusão de BEO diminui a FC ao longo do tempo de maturação.

Diante do exposto, com a crescente demanda por proteína animal sustentável e segura, é necessário encontrar soluções mais sustentáveis e ao mesmo tempo lucrativas para a cadeia produtiva de carne bovina. Sendo assim, vê-se com os estudos acima citados, que os BOE podem ser uma alternativa aos antibióticos ionóforos, mas há necessidade de mais estudos com o uso dos mesmos para bovinos confinados para aumentar a confiabilidade dos resultados.

2.3 Utilização de α -amilase exógena na alimentação de bovinos de corte

2.3.1 Modo de ação da enzima α -amilase exógena no ambiente ruminal

As enzimas AM podem ser obtidas de diversas fontes, como plantas, animais e microorganismos (SOUZA e MAGALHÃES, 2010). No entanto, as AM obtidas a partir de microorganismos têm um amplo espectro de aplicações industriais, pois são mais estáveis em relação a pH e temperatura (TANYILDIZI et al., 2005). Por isso, dos poucos produtos enzimáticos comercialmente disponíveis para a indústria de carne bovina contendo AM, estes são produzidos a partir de bactérias como *Bacillus licheniformis* (Ronozyme RumiStar™ - DSM Produtos nutricionais, Basel, Suíça) ou ainda, obtido a partir da fermentação de *Aspergillus oryzae* (AMAIZE® - Alltech Inc., Nicholasville, KY).

A molécula de amido é um polissacarídeo constituído de uma mistura de dois polímeros distintos - amilose e amilopectina, participando em média em 20 – 30% e 70 – 80% da composição do amido, respectivamente (MIAO et al., 2018). A amilose é um polímero linear formado por unidades de glicose ligadas através de ligações glicosídicas α -1,4, enquanto a amilopectina é altamente ramificada, incluindo ligações do tipo α -1,4 nas cadeias lineares e α -1,6 nos pontos de ramificação (TESTER et al., 2004). As enzimas AM são capazes de clivar ligações α -1,4 glicosídicas presentes na parte interna da amilose ou cadeia de amilopectina (Van Der Maarel et al., 2002), em oligossacarídeos mais curtos como maltodextrinas (GUPTA et al., 2006).

Em uma revisão de literatura realizada por Tricarico et al. (2008), os autores propõem alguns mecanismos de ação das enzimas exógenas no ambiente ruminal, incluindo hidrólise direta, aumento da adesão microbiana ruminal, estimulação de populações microbianas ruminais e sinergismo com enzimas microbianas ruminais. Os autores sugerem ainda, que as AM exógenas agem de forma semelhante as bactérias amilolíticas ruminais como *Ruminobacter amylophilus* e *Streptococcus bovis*, hidrolisando as ligações α -1,4 com a liberação de oligossacarídeos (maltodextrinas), e ainda clivando as ligações α -1,6 da amilopectina.

A maior digestibilidade ruminal do amido promovida pela suplementação de AM (DiLorenzo et al., 2011), promove a liberação de maltodextrinas, que podem ser utilizadas como substrato para o crescimento de bactérias celulolíticas como a *Butyrivibrio fibrisolvens* em mecanismos de alimentação cruzada (Tricarico et al., 2008), aumentando desta forma, a digestibilidade aparente total da FDN (KLINGERMAN et al., 2009; GENCOGLU et al., 2010; WEISS et al., 2011).

Amaro et al. (2021), avaliaram a inclusão AM sobre a digestibilidade ruminal *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e DIV do amido do milho moído. Os autores observaram aumento na DIVMS e na DIV do amido em 25,3% e 35% para a enzima AM (*Bacillus licheniformis*) em relação ao controle, respectivamente. Da mesma forma, Rubio et al. (2001), relataram que a AM de *Bacillus licheniformis* aumentou a DIV do amido ruminal do sorgo e milho.

2.3.2 Efeitos da α -amilase exógena para bovinos confinados

Quando o amido representa o principal componente em dietas de animais de alta produção, como em confinamento, o uso de enzimas que manipulem sua digestão no rúmen poderá promover aumento da produtividade (TRICARICO et al., 2008). Segundo Huntington (1997), a digestão ruminal do amido é um dos fatores mais importantes na determinação do desempenho de ruminantes alimentados com dietas de alto concentrado. Sendo assim, a adição de AM foi proposta para otimizar a utilização do amido em dietas de confinamento, mas os resultados ainda são inconsistentes (DILorenzo et al., 2011).

As primeiras pesquisa sobre a suplementação da dieta de bovinos com enzimas exógenas iniciou-se na década de 1960 (BURROUGHS et al. 1960; ROVICS e ELY 1962; PERRY et al. 1966). Mas com a inconsistência dos resultados obtidos, o menor conhecimento sobre o modo de ação das enzimas e seu alto custo de produção dificultaram o desenvolvimento deste campo (SUJANI e SERESINHE, 2015). Segundo os mesmos autores, com os recentes avanços na biotecnologia e redução do custo de produção das enzimas, têm levado pesquisadores a revisar o seu potencial de utilização como meio de melhor a EA em ruminantes.

Na literatura, a maioria das pesquisas com enzimas exógenas concentram-se em melhorias na digestibilidade da fibra no rúmen por meio da suplementação de enzimas fibrolíticas (BEAUCHEMIN et al., 2004; HUSSAIN et al., 2008; MENDOZA et al., 2014). Por outro lado, pesquisas com enzimas

amilolíticas são limitadas, sobretudo para bovinos de corte confinados, pois segundo Owens et al. (1998), melhorias na digestão do amido ruminal podem proporcionar uma digestão excessiva ou rápida e ocasionar quadros de acidose ruminal. No entanto, alguns estudos observaram respostas positivas para o desempenho de bovinos confinados suplementados com AM exógena em dietas de alto concentrado (TRICARICO et al., 2007; Di LORENZO et al., 2011).

Tricarico et al. (2007), avaliaram os efeitos da inclusão da AM no desempenho e características de carcaça de novilhas confinadas submetidas a 6 tratamentos dietéticos comparando dois métodos de processamento do milho (trincado ou alta umidade), suplementados ou não com AM (*Aspergillus oryzae* - Amaize, Alltech Inc., Nicholasville, KY) nas concentrações de 0,580 ou 1,160 DU/kg da MS da dieta. A suplementação de AM aumentou de forma quadrática o GPD, PVF, PCQ e AOL em ambos os métodos de processamento de milho, onde a suplementação com 0,580 UD/kg de MS de AM apresentou a melhor resposta.

Vários estudos com vacas leiteiras relataram aumento da produção de leite, melhora no balanço energético e melhor conversão da dieta em leite (TRICARICO et al., 2005; HARRISON e TRICARICO, 2007; KLINGERMAN et al., 2009; GENCOGLU et al., 2010; ANDREAZZI et al., 2018). Em contrapartida, alguns experimentos não observaram aumentos na IMS ou na produção de leite em vacas suplementadas com enzimas amilolíticas (FERRARETTO et al., 2011; NOZIÈRE et al., 2014; ZILIO et al., 2019).

Como descrito acima, algumas pesquisas observaram resultados promissores da suplementação de bovinos de corte e vacas de leite com enzima AM exógena. No entanto, precisamos ter cuidado ao comparar os resultados, pois as respostas obtidas dependem do microrganismos de origem (ex: *Aspergillus oryzae* vs. *Bacillus licheniformis*), das concentrações utilizadas da enzima ou ainda, da composição da dieta basal. Sendo assim, mais pesquisas precisam ser realizadas, sobretudo com bovinos confinados para obtermos mais consistência nos resultados.

2.3.3 Uso combinado de óleos essenciais e enzima α -amilase exógena para bovinos confinados

As primeiras pesquisas com a associação de BEO+AM para bovinos confinados são recentes e foram inicialmente direcionadas para aumento do desempenho animal, por meio da manipulação dos microrganismos do rúmen e aumento da utilização do amido no trato digestivo, visando sobretudo, encontrar alternativas “naturais” para substituir os ionóforos adicionados nas dietas (MESCHIATTI et al., 2019; GOUVÊA et al., 2019; TOSETI et al., 2020).

Meschiatti et al. (2019), avaliaram o desempenho produtivo de bovinos Nelores confinados alimentados com uma dieta basal contendo 91,5% de concentrado (%MS) com adição de 26 mg/kg de MS da dieta de MON (Rumensin Elanco Animal Health, Indianapolis, IN) ou uma combinação de um BEO+AM (90 mg/kg/MS de CRINA[®] *Ruminants* e 560 mg/kg/ de *Ronozyme RumiStarTM*, respectivamente). Os animais alimentados com BEO+AM apresentaram maior IMS (9,3%), GPD (12%)

e PCQ (12 kg) em comparação com os animais alimentados com MON, embora observou-se a mesma EA entre os dois tratamentos.

Gouvêa et al. (2019), avaliaram diferentes tamanhos de partícula de milho com a adição de MON ou a combinação de BEO+AM sobre o desempenho de bovinos confinados alimentados com uma dieta contendo 91,5% de concentrado. Os tratamentos consistiram em dois tamanhos de partículas de milho moído (médio - 1,66 mm; MG e grosso - 2,12 mm; CG), com adição de MON (26 ppm/kg/MS) ou a combinação de BOE +AM (90 mg/kg/MS e 560 mg/kg/MS, respectivamente). Os autores observaram maior (7,4%) IMS para os animais alimentados com BEO+AM comparado com MON. Além disso, os animais alimentados com BEO+AM apresentaram 11 kg a mais que o tratamento MON em dietas contendo milho CG e MG. Somado a isto, os animais alimentados com BEO+AM em dietas contendo milho CG apresentaram 14 kg a mais de carcaça em comparação com o mesmo aditivo contendo MG.

Toseti et al. (2020), também avaliaram os efeitos dos aditivos alimentares MON (26 mg/kg/MS) ou a combinação BEO+AM (90 e 560 mg/kg/MS, respectivamente) associada a uma das duas fontes e volumosas (silagem de milho ou bagaço de cana-de-açúcar), sobre o desempenho e qualidade de carne de bovinos confinados. Os animais alimentados com a combinação BEO+AM apresentaram maior GPD, PVF e PCQ comparado aos animais alimentados com MON. Além disso, para as características de qualidade foram observadas diferenças apenas para a variável L^* , a qual foi maior para os animais alimentados com MON quando comparado ao grupo BEO+AM.

Os estudos supracitados sugerem que a combinação de ambos os aditivos, BOE+AM em dietas de terminação, são alternativas promissoras para contornar as preocupações com o uso de antibióticos na produção de carne bovina. Por isso, sendo o milho uma das principais fontes energéticas utilizadas por nutricionistas de confinamentos e tendo em vista o seu custo elevado, otimizar a sua digestibilidade mantendo ou aumentando o desempenho dos animais, é uma importante área de pesquisa e devem ser avaliadas em estudos subsequentes.

2.4 25-hidroxivitamina D₃ no desempenho de bovinos confinados

2.4.1 Metabolismo da vitamina D e maciez da carne

A vitamina D dietética pode ser obtida como vitamina D₃ (coleciferol) que é de origem animal e vitamina D₂ (ergocalciferol) que é formada em fungos e algumas plantas (MAKRIS et al. 2020). A vitamina D₃, um pró-hormônio essencial produzido na pele por irradiação ultravioleta do 7-desidrocolesterol é liberada na corrente sanguínea e ligada à proteína de ligação da vitamina D (DBP), que representa a principal forma de transporte de vitamina D no sangue (SAED et al., 2020).

Ao chegar no fígado ocorre a primeira etapa de ativação da vitamina D₃, onde a enzima D-25-hidroxilase catalisa a reação de transformação em 25-(OH)D₃. A segunda etapa ocorre nos rins, com a presença da enzima 1 α -hidroxilase responsável pela conversão de 25(OH)D₃ no hormônio esteróide

ativo 1,25-dihidroxitamina D₃ ou calcitriol (1,25(OH)₂D₃) (Horst et al., 2005), que representa o metabólito responsável pela maioria, se não todas, as ações biológicas da vitamina D no organismo (MAKRIS et al. 2020).

A 1,25(OH)₂D₃ participa de vários processos no organismo, incluindo ativação do sistema imune (Nelson et al., 2010; Xu et al., 2021), absorção de cálcio (Ca) e fósforo (P) no intestino, mobilização de Ca ósseo, reabsorção de Ca nos rins (Deluca, 2004) e até mesmo no metabolismo desses minerais no músculo (DE BOLAND e NEMERE, 1992). A maior absorção de Ca no intestino resulta em aumento na concentração plasmática de Ca²⁺ (Foote et al., 2004), já que o 1,25(OH)₂D₃ é o principal hormônio controlador da absorção intestinal de Ca (CHRISTAKOS, 2012).

Por esse motivo, as pesquisas com vacas leiteiras suplementadas com 25-(OH)D₃ estão mais avançadas, relacionadas a melhorias no sistema imunológico durante o período de transição em que os animais estão mais susceptíveis a distúrbios metabólicos como a hipocalcemia (WILKENS et al., 2012; WEISS et al., 2015; GUO et al., 2018; RODNEY et al., 2018; MARTINEZ et al., 2018; SILVA et al., 2022). Por outro lado, o foco das pesquisas com bovinos confinados suplementados com vitamina D e seus metabólitos, em sua maioria estão relacionadas ao aumento da maciez da carne (Foote et al., 2004 e Wertz et al., 2004; Duffy et al., 2017), uma vez que a suplementação com vitamina D₃ pode aumentar as concentrações plasmática e muscular de Ca²⁺, ativando o amaciamento da carne induzido por calpaína (Swanek et al., 1999; Montgomery et al., 2000) ou, a maior maciez da carne pode estar relacionado a um aumento citosólico do Ca²⁺ e não ao aumento absoluto do Ca²⁺muscular (FOOTE et al., 2004).

Carnagey et al. (2008), avaliaram doses crescentes de 25-(OH)D₃ (0, 250 ou 500 mg/animal) administrados oralmente e de uma única vez 7 dias antes do abate dos animais. Os autores relataram que a suplementação com 25-(OH)D₃ elevou a concentração de 25-(OH)D₃ e de cálcio no plasma (75 ng/ml vs. 200 ng/ml; 9,53 vs. 11,43 mg/dL para o grupo controle e média dos tratamentos 250 e 500 mg 25-(OH)D₃, respectivamente) porém, não melhorou a força de cisalhamento da carne, provavelmente devido ao pequeno número de amostras utilizados no estudo.

Foote et al. (2004), também avaliaram os efeitos da suplementação 25-(OH)D₃ sobre as concentrações plasmáticas de Ca²⁺, 25-(OH)D₃ e a maciez da carne de bovinos confinados. Os resultados indicaram que os novilhos tratados com 25-(OH)D₃ apresentaram maiores concentrações circulantes de 25-(OH)D₃ do que o controle, mas não elevou as concentrações plasmáticas de Ca²⁺. Por outro lado, a suplementação com 25-(OH)D₃ tendeu a diminuir a força de cisalhamento dos bifes *Semimembranosus* maturados por 21 dias em comparação ao controle não suplementado.

Wertz et al. (2004) administraram um bolus oral único de 25-(OH)D₃, nas doses de 62,5 ou 125 mg em vários momentos antes do abate (4, 7, 21 ou 35 dias pré-abate), com o intuito de aumentar a maciez da carne. A suplementação com 25-(OH)D₃ aumentou as concentrações plasmáticas de 25-(OH)D₃ até o abate, independentemente da dose ou tempo de administração do bolus, mas não aumentou as concentrações plasmáticas de Ca e a força de cisalhamento. Os autores concluem que as dosagens

baixas utilizadas podem explicar a falta de resultados, por isso, mais pesquisas são necessárias para encontrar a dose-resposta eficaz de 25-(OH)D₃ para ser utilizada como meio nutricional de melhorar a maciez da carne.

Em relação ao P plasmático, este geralmente é avaliado durante a suplementação de vitamina D₃ devido ao seu papel no mecanismo de feedback negativo na enzima 1 α -hidroxilase, ou seja, a produção de 1,25(OH)₂D₃ aumenta com P plasmático baixo e diminui com P plasmático alto, justamente pelo fato de P regular a atividade da 1 α -hidroxilase (GANONG, 2005). Na literatura são escassas as pesquisas avaliando o P sanguíneo de bovinos confinados suplementados com os metabólitos da vitamina D₃. No entanto, Karges et al. (2001) avaliaram a suplementação de novilhos com vitamina D₃ por 4 ou 6 dias antes do abate e não encontraram diferenças no P plasmático quando comparados ao controle. Da mesma forma, Montgomery et al. (2004), não encontraram diferenças no P plasmático e muscular em bovinos suplementados com vitamina D₃ por 8 dias antes do abate.

2.4.2 Efeitos da 25-hidroxitamina D₃ para bovinos confinados

Segundo Celi et al. (2018), a vitamina D começou a ser comercializada para uso na alimentação animal na sua forma ativa 25-(OH)D₃ no final da década de 1990, através do nome comercial HyD®. Na literatura, a suplementação de 25-(OH)D₃ na alimentação animal são focadas principalmente na redução de anormalidades ósseas em frangos de corte (Fritts Waldroup, 2005; Rao et al, 2008), melhoras nas defesas imunológicas de vacas leiteiras (Lippolis et al., 2011; Poindexter et al., 2019) e aumentos na produção de leite (Poindexter et al, 2019) ou ainda, mais recentemente estudos com bovinos de corte, revelaram resultados promissores no aumento do desempenho e produção de carcaça dos animais (ACEDO et al, 2018; CARVALHO e PERDIGÃO, 2019; GOUVÊA et al., 2019; NIEHUES et al, 2021).

Pesquisas recentes observaram que a suplementação de 25-(OH)D₃ ativa os mecanismos que promovem o acúmulo de proteínas no tecido muscular (HUTTON et al., 2014; VIGNALE et al., 2015; MARTINS et al., 2020). Estudos com aves demonstraram a presença da enzima 1- α -hidroxilase e do receptor de vitamina D (VDR) nas células musculares, sugerindo que a Vitamina D₃ pode ter ação direta no músculo (SRIKUEA et al., 2012; GIRGIS et al., 2014; VIGNALE et al., 2015). Sendo assim, é possível que o músculo esquelético possa funcionar como um local de conversão de 25-(OH)D₃ para a forma ativa 1,25-(OH)₂D₃, a qual desempenha funções fisiologicamente relevantes nas células musculares.

Acedo et al (2018), avaliaram doses crescentes de 25-(OH)D₃ sobre o desempenho e produção de carcaça de bovinos confinados alimentados com uma dieta contendo 87% de concentrado (%MS). Os tratamentos foram: **1**) Controle: sem suplementação de 25(OH)D₃ (HyD®, DSM Nutritional Products, Basel, Suíça); **2**) Suplementação de HyD a 1 mg/animal/d e **3**) Suplementação de HyD a 3 mg/animal/d. A suplementação com HyD não alterou o PVF, GPD, IMS e EA. No entanto, um efeito quadrático foi observado para a inclusão de HyD, onde os animais suplementados com 1 mg/d apresentaram 0,54 pontos

percentuais a mais de RC em relação aos animais não suplementados ou que receberam 3 mg/d de HyD na dieta.

Carvalho e Perdigão (2019), observaram maior PCQ (4,2 kg) para bovinos confinados suplementados com 1 mg/animal/dia de HyD em comparação ao controle não suplementado. Já Gouvêa et al. (2019b) observaram que os animais suplementados com 1 mg/animal/dia de HyD apresentaram maior GPD (1,350 vs. 1,437 kg/dia) e tenderam a apresentar maior PVF (562,75 vs. 568,70) em comparação aos animais não suplementados. Além disso, Niehues et al. (2021) utilizaram novilhos recriados em pastejo durante a estação seca, suplementados com mineral proteico, mineral proteico com MON ou proteico energético, os três com ou sem adição de 1 mg/animal/dia de HyD. Observou-se que independentemente da estratégia nutricional, a suplementação com HyD aumentou o GPD em 32 g/dia (0,165 vs. 0,133 kg/dia) e o PVF em 3,9 kg (287,5 vs. 283,6 kg), comparado aos novilhos não suplementados.

Estrada-Ângulo et al. (2022), avaliaram a alimentação de 120 mg/kg de MS da dieta de um BEO (CRINA® *Ruminants*) + 0,12 mg/kg de MS da dieta de HyD em comparação com 20 mg/kg da MS da dieta de MON + 20 mg/kg da MS da dieta de virginiamicina (VM) no desempenho e produção de carcaça de bovinos confinados. Os autores não observaram diferenças na IMS, GPD e PVF, no entanto os animais alimentados com a combinação BEO+HyD tenderam a apresentar 1,7% mais PCQ e tiveram maior AOL (7,9%) em comparação aos animais alimentados com MON+VM.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACEDO, T. S.; NUNES DE GOUVEA, V.; DE SOUZA FLORIANO MACHADO DE VASCONCELLOS, G.; ARRIGONI, M.; LUDOVICO MARTINS, C.; MILLEN, D.; DOMINGUES SARTOR, A. PSXVII-27 Effect of 25-hydroxy-vitamin-D₃ on feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 96(suppl_3), 447-448, 2018.

AMARO, F. X.; KIM, D.; AGARUSSI, M. C.; SILVA, V. P.; FERNANDES, T.; ARRIOLA, K. G.; ... VYAS, D. Effects of exogenous α -amylases, glucoamylases, and proteases on ruminal *in vitro* dry matter and starch digestibility, gas production, and volatile fatty acids of mature dent corn grain. *Translational animal science*, 5(1), 2021.

ANDREAZZI, A. S. R., M. N. PEREIRA, R. B. REIS, R. A. N. PEREIRA, N. N. MORAIS JUNIOR, T. S. ACEDO, R. G. HERMES, AND C. S. CORTINHAS. Effect of exogenous amylase on lactation performance of dairy cows fed a high starch diet. *J. Dairy Sci.* 101:7199–7207. doi:10.3168/jds.2017-14331, 2018.

ANUALPEC - Anuário da Pecuária Brasileira. 2001. Agra FNP Pesquisas Ltda, São Paulo. 360p.

AZZAZ, H.H.; MURAD, H.A.; MORSY, T.A. Utility of ionophores for ruminant animals: A review. *Asian J. Anim. Sci.* 2015, 9, 254–265.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475, 2008.

- BEAUCHEMIN, K. A.; COLOMBATTO, D.; MORGAVI, D. P.; YANG, W. Z.; RODE, L. M. Mode of action of exogenous cell wall degrading enzymes for ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, 84(1), 13-22, 2004.
- BENCHAAR, C.; PETIT, H.V.; BERTHIAUME, R.; WHYTE, T.D.; CHOUNARD, P.Y. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89, 4352–4364, 2006.
- BENCHAAR, C., H. V. PETIT, R. BERTHIAUME, D. R. OUELLET, J. CHIQUETTE, AND P. Y. CHOUNARD. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *J. Dairy Sci.* 90:886–897. doi:10.3168/jds.S0022-0302(07)71572-2, 2007.
- BERGEN, W. G., & BATES, D. B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. *Journal of animal science*, 58(6), 1465-1483, 1984.
- BIRGE, S. J.; HADDAD, J. G. 25-Hydroxycholecalciferol stimulation of muscle metabolism. *J. Clin Invest* 56, 1100–1107, 1975.
- BOOTH, I.R. Regulation of cytoplasmic pH in bacteria. *Microbiol. Rev.* 1985, 49, 359–378.
- BURROUGHS, W.; WOODS, W.; EWING, S. A.; GREIG, J.; THEURER, B. Enzyme additions to fattening cattle rations. *J. Anim. Sci.* 19: 458–464, 1960.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253, 2004.
- CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; CARDOZO, P.W.; CASTILLEJOS, L.; FERRET, A. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 90, 2580–2595, 2007.
- CARDOZO, P. W.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; KAMEL, C. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a highconcentrate diet for beef cattle. *J. Anim. Sci.* 83:2572–2579, 2005.
- CARNAGEY, K.M.; HUFF-LONERGAN, E.J.; LONERGAN, S.M.; TRENKLE, A; HORST, R.L.; BEITZ, D.C. Use of 25-hydroxyvitamin D₃ and dietary calcium to improve tenderness of beef from the round of beef cows. *Journal of Animal Science*, v. 86, p. 1637-1648, 2008
- CARSON, C.F.; MEE, B.J.; RILEY, T.V. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46 (6), 1914 – 1920, 2002.
- CARVALHO, V. V.; PERDIGÃO, A. PSXIV-11 Supplementation of 25-hydroxy-vitamin-D₃ and increased vitamin E as a strategy to increase carcass weight of feedlot beef cattle. *Journal of Animal Science*, 97(Suppl 3), 440, 2019.
- CELI, P.; WILLIAMS, S.; ENGSTROM, M.; MCGRATH, J.; LA MARTA, J. Safety evaluation of dietary levels of 25-hydroxyvitamin D₃ in growing calves. *Food and Chemical Toxicology*, v. 111, p. 641-649, 2018.
- DAVIDSON, P.M. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (Eds.), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. ASM, Washington, pp. 520 – 556, 1997.
- DE BOLAND, A. R.; NEMERE, I. Rapid actions of vitamin D compounds. *J. Cell. Biochem*, 1992.

- DELUCA, H. F. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *The American journal of clinical nutrition*, 80(6), 1689S-1696S, 2004.
- DENNIS, S. M.; NAGARAJA, T. G.; BARTLEY, E. E. Effects of lasalocid or monensin on lactate producing or using rumen bacteria. *J. Anita. Sci.* 52:418, 1981.
- DE SOUZA, K. A.; DE OLIVEIRA MONTESCHIO, J.; MOTTIN, C.; RAMOS, T. R.; DE MORAES PINTO, L. A.; EIRAS, C. E.; ... DO PRADO, I. N. Effects of diet supplementation with clove and rosemary essential oils and protected oils (eugenol, thymol and vanillin) on animal performance, carcass characteristics, digestibility, and ingestive behavior activities for Nellore heifers finished in feedlot. *Livestock Science*. 220 (2019) 190–195, 2018.
- DEVANT, M.; ANGLADA, A.; BACH, A. Effects of plant extract supplementation on rumen fermentation and metabolism in young Holstein bulls consuming high levels of concentrate. *Anim. Feed Sci. Technol.* 137, 46–57, 2007.
- DILORENZO, N., D. R. SMITH, M. J. QUINN, M. L. MAY, C. H. PONCE, W. STEINBERG, M. A. ENGSTROM, AND M. L. GALYEAN. Effects of grain processing and supplementation with exogenous amylase on nutrient digestibility in feedlot diets. *Livest. Sci.* 137:178–184, 2011.
- DI PASQUA, R.; HOSKINS, N.; BETTS, G.; MAURIELLO, G. Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addition of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. *J. Agric. Food Chem.* 54, 2745–2749, 2006.
- DUFFIELD, T. F.; RABIEE, A. R.; LEAN, I. J. A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 1. Metabolic effects. *Journal of dairy science*, 91(4), 1334-1346, 2008.
- DUFFIELD, T.F.; MERRILL, J.K.; BAGG, R.N. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. *J. Anim. Sci.* 2012, 90, 4583–4592.
- DUFFY, S. K.; O'DOHERTY, J. V.; RAJAURIA, G.; CLARKE, L. C.; CASHMAN, K. D.; HAYES, A.; ... & KELLY, A. K. Cholecalciferol supplementation of heifer diets increases beef vitamin D concentration and improves beef tenderness. *Meat science*, 134, 103-110, 2017.
- ELLIS, J. L.; DIJKSTRA, J.; BANNINK, A.; KEBREAB, E.; HOOK, S. E.; ARCHIBEQUE, S.; FRANCE, J. Quantifying the effect of monensin dose on the rumen volatile fatty acid profile in high-grain-fed beef cattle. *J. Anim. Sci.* 90:2717–2726, 2012. doi:10.2527/jas.2011-3966.
- ESTRADA-ANGULO, A., MENDOZA-CORTEZ, D. A., RAMOS-MÉNDEZ, J. L., ARTEAGA-WENCES, Y. J., URÍAS-ESTRADA, J. D., CASTRO-PÉREZ, B. I., ... & PLASCENCIA, A. Comparing Blend of Essential Oils Plus 25-Hydroxy-Vit-D3 Versus Monensin Plus Virginiamycin Combination in Finishing Feedlot Cattle: Growth Performance, Dietary Energetics, and Carcass Traits. *Animals*, 12(13), 1715, 2022.
- FANDIÑO, I.; FERNANDEZ-TURREN, G.; FERRET, A.; MOYA, D.; CASTILLEJOS, L.; CALSAMIGLIA, S. Exploring additive, synergistic or antagonistic effects of natural plant extracts on in vitro beef feedlot-type rumen microbial fermentation conditions. *Animals*, 10(1), 173, 2020.
- FERRARETTO, L. F.; R. D. SHAVER; M. ESPINEIRA; H. GENCOGLU; S. J. BERTIC. Influence of a reduced-starch diet with or without exogenous amylase on lactation performance by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94:1490–1499, 2011.

FOOTE, M.R.; HORST, R.L.; HUFF-LONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.H.; PARRISH, F.C. JR.; BEITZ, D.C. The use of vitamin D₃ and its metabolites to improve beef tenderness. *Journal of Animal Science*, v. 82, p. 242-249, 2004.

FRITTS, C. A.; WALDROUP, P. W. Comparison of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol in broilers diets designed to minimize phosphorus excretion. *J. Appl Poultry Res.* 2005; 14(1):156–166.

GANONG, W.F. *Review of medical physiology*. Lange Medical Books/McGrawHill. San Francisco, CA, 2005.

GENCOGLU, H., R. D. SHAVER, W. STEINBERG, J. ENSINK, L. F. FERRARETTO, S. J. BERTICS, J. C. LOPES, AND M. S. AKINS. Effect of feeding a reduced-starch diet with or without amylase addition on lactation performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:723–732. doi:10.3168/jds.2009-2673, 2010.

GERACI, J.I.; GARCIARENA, A.D.; GAGLIOSTRO, G.A.; BEAUCHEMIN, K.A.; COLOMBATTO, D. Plant extracts containing cinnamaldehyde, eugenol and capsicum oleoresin added to feedlot cattle diets: Ruminal environment, short term intake pattern and animal performance. *Anim. Feed Sci. Technol.* 176, 123–130, 2012.

GIRGIS, C.M.; MOKBEL, N.; CHA, K. M.; HOUWELING, P. J.; ABOUD, M.; FRASER, D. R.; MASON, R. S.; CLIFTON-BLIGH, R.J.; GUNTON, J. E. The vitamin D receptor (VDR) is expressed in skeletal muscle of male mice and modulates 25-hydroxyvitamin D (25OHD) uptake in myofibers. *Endocrinology* 2014;155:3227–37.

GOODRICH, R. D., J. E. GARRETT, D. R. GAST, M. A. KIRICK, D. A. LARSON, AND J. C. MEISKE. Influence of monensin on the performance of cattle. *J. Anim. Sci.* 58:1484–1498. doi:10.2527/jas1984.5861484x, 1984.

GOUVÊA, V. N.; MESCHIATTI, M. A. P.; MORAES, J. M. M.; BATALHA, C. D. A.; DÓREA, J. R. R.; ACEDO, T. S.; TAMASSIA, L. F. M.; OWENS, F. N.; SANTOS, F. A. P. Effects of alternative feed additives and flint maize grain particle size on growth performance, carcass traits and nutrient digestibility of finishing beef cattle. *The Journal of Agricultural Science* 1–13, 2019a. <https://doi.org/10.1017/S0021859619000728>

GOUVÊA, V. N.; VASCONCELLOS, G. S.; ACEDO, T. S.; TAMASSIA, L. F. 399 The 25-hydroxyvitamin D₃ supplementation improves animal performance of Nelore cattle grazed in tropical grass. *Journal of Animal Science*, 97(Supplement_3), 161–161. doi:10.1093/jas/skz258.331, 2019b.

GUPTA, R.; GIGRAS, P.; MOHAPATRA, H.; GOSWAMI, V.K.; CHAUHAN, B. Microbial - amylases: a biotechnological perspective. *Process Biochem* 38, 1599 – 1616, 2003.

GUO, J.; JONES, A. K.; GIVENS, D. I.; LOVEGROVE, J. A.; KLIEM, K. E. Effect of dietary vitamin D₃ and 25-hydroxyvitamin D₃ supplementation on plasma and milk 25-hydroxyvitamin D₃ concentration in dairy cows. *Journal of dairy science*, 101(4), 3545-3553, 2018.

HANEY, M.; HOEHN, M. Monensin, a new biologically active compound I: Discovery and isolation. *Antimicrob. Agents Chemother.* 349:349, 1967.

HARRISON, G. A.; TRICARICO, J. M. Case study: Effects of an *Aspergillus oryzae* containing alpha amylase on lactational performance in commercial dairy herds. *Prof. Anim. Scientist* 23:291–294, 2007.

HELANDER, I.M.; ALAKOMI, H.L.; LATVA-KALA, K.; MATTILA-SANDHOLM, T.; POL, I.; SMID, E.J.; GORRIS, L.G.M.; VON WRIGHT. A. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram negative bacteria. *J. Agric. Food Chem.* 46, 3590–3595, 1998.

- HOFFMAN, P. C.; ESSER, N. M.; SHAVER, R. D.; COBLENTZ, W. K.; SCOTT, M. P.; BODNAR, A. L.; SCHMIDT, R. J.; CHARLEY, R. C. Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 94, n. 5, p. 2465–2474, 2011.
- HOOK S. E.; WRIGHT, A –D. G.; MCBRIDE, B. W. Methanogens: methane producers of the rumen and mitigation strategies. *Archea*, 2010:945785. doi:10.1155/2010/945785.
- HORTON, G. M. J., J. G. MANNS, H. H. NICHOLSON, AND G. A. HARROP. Behavioral activity, serum progesterone and feedlot performance of heifers fed melengesterol acetate and monensin. *Can. J. Anim. Sci.* 61:695–702, 1981.
- HORTON, G. M. J. Performance of growing steers fed lasalocid or monensin in a high silage diet. *Nutr. Rep. Intl.* 29:1427–1435, 1984.
- HORST, R.L.; GOFF, J.P.; REINHARDT, T.A. Adapting to the transition between gestation and lactation: Differences between rat, human and dairy cow. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 2005, 10, 141–156.
- HUMMELBRUNNER, L. A; ISMAN, M. B. Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). *J. Agric. Food Chem.* 49: 715–720, 2001.
- HUNTINGTON, G. B. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *Journal of animal science*, 75(3), 852-867, 1997.
- HUSSAIN, A.; NISA, M.; SARWAR, M.; SHARIF, M.; JAVAID, A. Effect of exogenous fibrolytic enzymes on ruminant performance. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 45(2), 2008.
- HUTTON, K.C.; VAUGHN, M. A.; LITTA, G.; TURNER, B. J.; STARKEY, J. D. Effect of vitamin D status improvement with 25-hydroxycholecalciferol on skeletal muscle growth characteristics and satellite cell activity in broiler chickens. *J. Anim. Sci.* 92:3291–9, 2014.
- JUVEN, B.J.; KANNER, J.; SCHVED, F.; WEISSLOWICZ, H. Factors that Interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *J. Appl. Bacteriol.* 1994, 76, 626–631.
- KARGES, K., J.C. BROOKS, D.R. GILL, J.E. BREAZILE, F.N. OWENS, AND J.B. MORGAN. 2001. Effects of supplemental vitamin D₃ on feed intake, carcass characteristics, tenderness, and muscle properties of beef steers. *J. Anim. Sci.* 79:2844-2850, 2001.
- KHIAOSA-ARD, R.; ZEBELI, Q. Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. *Journal of Animal Science* 91, 1819–1830, 2013.
- KHORRAMI, B., VAKILI, A. R., MESGARAN, M. D., & KLEVENHUSEN, F. Thyme and cinnamon essential oils: Potential alternatives for monensin as a rumen modifier in beef production systems. *Animal Feed Science and Technology*, 200, 8–16, 2015. doi:10.1016/j.anifeedsci.2014.11, 2015.
- KLINGERMAN, C. M., W. HU, E. E. MCDONELL, M. C. DERBEDROSIAN, AND L. KUNG, JR. An evaluation of exogenous enzymes with amylolytic activity for dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92:1050–1059. doi:10.3168/jds.2008-1339, 2009.

- LIPPOLIS, J. D.; T. A. REINHARDT; R. A. SACCO; B. J. NONNECKE; AND C. D. NELSON. Treatment of an intramammary bacterial infection with 25-hydroxyvitamin D(3). *PLoS One* 6:e25479, 2011.
- MAKRIS, K.; SEMPOS. C.; CAVALIER E. The measurement of vitamin D metabolites: part I- metabolism of vitamin D and the measurement of 25-hydroxyvitamin D. *Hormones (Athens)*. 19:81–96, 49:32–36, 2020.
- MARQUES, R. D. S., & COOKE, R. F. Effects of ionophores on ruminal function of beef cattle. *Animals*, 11(10), 2871, 2021.
- MARTINEZ, N.; RODNEY, R. M.; BLOCK, E.; HERNANDEZ, L. L.; NELSON, C. D., LEAN, I. J.; SANTOS, J. E. P. Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: Lactation performance and energy metabolism. *Journal of Dairy Science*, 101(3), 2544–2562. doi:10.3168/jds.2017-13739, 2018.
- MARTINS, T. E.; ACEDO, T. S.; GOUVEA, V. N.; VASCONCELLOS, G. S.; ARRIGONI, M. B.; MARTINS, C. L.; ... & SARTOR, A. B. PSVII-6 Effects of 25-hydroxycholecalciferol supplementation on gene expression of feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 98(Supplement_4), 302-303, 2020.
- MCINTOSH, F. M., WILLIAMS, P., LOSA, R., WALLACE, R. J., BEEVER, D. A., & NEWBOLD, C. J. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. *Applied and environmental microbiology*, 69(8), 5011-5014, 2003.
- MENDOZA, G. D.; LOERA-CORRAL, O.; PLATA-PÉREZ, F. X.; HERNÁNDEZ-GARCÍA, P. A.; RAMÍREZ-MELLA, M. Considerations on the Use of Exogenous Fibrolytic Enzymes to Improve Forage Utilization. *The Scientific World Journal*, 2014, 1–9. doi:10.1155/2014/247437.
- MESCHIATTI, M. A.; GOUVÊA, V. N.; PELLARIN, L. A.; BATALHA, C. D.; BIEHL, M. V.; ACEDO, T. S.; SANTOS, F. A. Feeding the combination of essential oils and exogenous α -amylase increases performance and carcass production of finishing beef cattle. *Journal of Animal Science*. v97, p. 456-471, 2019.
- MEYER, N. F.; ERICKSON, G. E.; KLOPFENSTEIN, T. J.; GREENQUIST, M. A.; LUEBBE, M. K. Effect of essential oils, tylosin, and monensin on finishing steer performance, carcass characteristics, liver abscesses, ruminal fermentation, and digestibility. *J. Anim. Sci.* 87, 2346–2354, 2009.
- MIAO, M., JIANG, B., JIN, Z., & BEMILLER, J. N. Microbial Starch-Converting Enzymes: Recent Insights and Perspectives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. doi:10.1111/1541-4337.12381, 2018.
- MONTGOMERY, J. L.; BLANTON, J. R.; HORST, R. L.; GALYEAN, M. L.; MORROW, K. J.; WESTER, D. B.; MILLER, M. F. Effects of biological type of beef steers on vitamin D, calcium, and phosphorus status. *Journal of Animal Science*, 82(7), 2043–2049, 2004.
- MONTGOMERY, J. L.; PARRISH, F. C.; BEITZ, JR. D. C.; HORST, R. L.; HUFF-LONERGAN, E. J.; TRENKLE, A. H. The use of vitamin D₃ to improve beef tenderness. *J. Anim. Sci.* 78:2615–2621, 2000.
- MONTESCHIO, J. O.; DE SOUZA, K. A.; VITAL, A. C. P.; GUERRERO, A.; VALERO, M.V.; KEMPINSKI, E. M. B. C.; BARCELOS, V. C.; NASCIMENTO, K.F.; DO PRADO, I. N. Clove and rosemary essential oils and encapsulated active principles (eugenol, thymol and vanillin blend) on meat quality of feedlot-finished heifers. *Meat Sci.*, 130 (2017), pp. 50-57, 10.1016/j.meatsci.2017.04.002.

- NAGARAJA, T. G.; AVERY, T. B.; BARTLEY, E. E.; GALITZER, S. J.; DAYTON, A. D. Prevention of lactic acidosis in cattle by lasalocid or monensin. *Journal of Animal Science*, 53(1), 206-216, 1981.
- NAGARAJA, T. G.; AVERY, T. B.; BARTLEY, E. E.; ROOF, S. K.; DAYTON, A. D. Effect of lasalocid, monensin or thiopeptin on lactic acidosis in cattle. *J. Anim. Sci.* 54:649, 1982.
- NAZZARO, F.; FRATIANNI, F.; DE MARTINO, L.; COPPOLA, R.; DE FEO, V. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451–1474, 2013. doi:10.3390/ph6121451
- NELSON, C. D.; REINHARDT, T. A.; THACKER, T. C.; BEITZ, D. C.; LIPPOLIS, J. D. Modulation of the bovine innate immune response by production of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ in bovine monocytes. *J. Dairy Sci.* 93:1041–1049. doi:10.3168/jds.2009-2663, 2010.
- NIEHUES, M.; PERDIGAO, A.; VASCONCELLOS, G. S.; CORREA, H. L.; GOUVEA, D.; DE CARVALHO, V. V.; ACEDO, T. S. 25-hydroxy-vitamin-D₃ improves productive performance of grazing Nellore cattle during dry season. In *Journal of animal science* (Vol. 99, pp. 482-482). Journals dept, 2001 evans rd, cary, nc 27513 usa: oxford univ press inc, 2021.
- NIKAIDO, H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67, 593–656, 2003.
- NOZIÈRE, P.; STEINBERG, W.; SILBERBERG, M.; MORGAVI, D. P. Amylase addition increases starch ruminal digestion in first-lactation cows fed high and low starch diets. *Journal of Dairy Science*, 97(4), 2319-2328, 2014.
- OLIVEIRA, C. A.; MILLEN, D. D. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. *Animal Feed Science and Technology* 197:64-75, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.08.010>
- ORNAGHI, M. G.; PASSETTI, R. A. C.; TORRECILHAS, J. A.; MOTTIN, C.; VITAL, A. C. P.; GUERRERO, A.; ... PRADO, I. N. Essential oils in the diet of young bulls: Effect on animal performance, digestibility, temperament, feeding behaviour and carcass characteristics. *Animal Feed Science and Technology*, 234, 274–283, 2017.
- OVCHINNIKOV, J. A. Physico chemical basis of ion transport through biological membranes: Ionophores and ion channels. *Eur. J. Biochem.*94:321, 1979.
- OWENS, F. N.; SECRIST, D. S.; HILL, W. J.; GILL, D. R. Acidosis in cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 76:275–286, 1998.
- PERRY, T. W.; PURKHISER, E. D.; BEESON, W. M. Effects of supplemental enzymes on nitrogen balance, digestibility of energy and nutrients and on growth and feed efficiency of cattle. *J. Anim. Sci.* 25: 760–764, 1966.
- PINTO, A. C. J.; MILLEN, D. D. Nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists: the 2016 Brazilian survey. *Canadian Journal of Animal Science*, v. 1, p. CJAS-2018-0031, 2019.
- POINDEXTER, M. B.; KWEH, M. F.; ZIMPEL, R.; ZUNIGA, J.; LOPERA, C.; ZENOBI, M. G.; JIANG, Y.; ENGSTROM, M.; CELI, P.; SANTOS, J. E. P.; NELSON, C. D. Feeding supplemental 25-hydroxyvitamin D₃ increases serum mineral concentrations and alters mammary immunity of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. doi:10.3168/jds.2019-16999, 2019.

- PUKROP, J. R., CAMPBELL, B. T., & SCHOONMAKER, J. P. Effect of essential oils on performance, liver abscesses, carcass characteristics and meat quality in feedlot steers. *Animal Feed Science and Technology*, 257, 114296, 2019.
- PRESSMAN, B. C.; DEGUZMAN, N. T. Biological applications of ionophores: Theory and practice. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 264(1), 373-386, 1975.
- PRESSMAN, B. C. Biological application of ionophores. *Ann. Rev. Biochem.* 45: 501, 1976.
- RAO, S. V. R.; RAJU, M. V.; PANDA, A. K.; SAHARAI, P. N.; REDDY, M. R.; SUNDER, G. S.; SHARMA, R. P. Effect of Surfeit Concentrations of Vitamin D3 on Performance, Bone Mineralization and Mineral Retention in Commercial Broiler Chicks. *The Journal of Poultry Science*, 45(1), 25-30 2008.
- RICHARDSON, L. F.; RAUN, A. P.; POTTER, E. L.; COOLEY, C. O. Effect of Monensin in rumen fermentation *in vitro* and *in vivo*. *J. Anita. Sci.* 43:657, 1976.
- RIVAROLI, D. C.; GUERRERO, A.; VALERO, M.V.; ZAWADZKI, F.; EIRAS, C.E.; CAMPO, M.M.; SAÑUDO, C.; JORGE, A.M.; PRADO, I. N. Effect of essential oils on meat and fat qualities of crossbred young bulls finished in feedlots. *Meat Sci.*, 121 (2016), pp. 278-284, 10.1016/j.meatsci.2016.06.017
- RODNEY, R. M.; MARTINEZ, N. P.; CELI, P.; BLOCK, E.; THOMSON, P. C.; WIJFFELS, G.; FRASEE, D. R.; SANTOS, J. E. P.; LEAN, I. J. Associations between bone and energy metabolism in cows fed diets differing in level of dietary cation-anion difference and supplemented with cholecalciferol or calcidiol. *Journal of dairy science*, 101(7), 6581-6601, 2018.
- RUBIO, R. R., MARTÍNEZ, G. D. M., & GALVÁN, M. M. C. Uso de la amilasa termoestable de *Bacillus licheniformis* en la digestibilidad *in vitro* del almidón de sorgo y maíz. *Agrociencia*, 35(4), 423-427, 2001.
- RUSSELL, J.B. A Proposed mechanism of monensin action in inhibiting ruminant bacterial growth: Effects on ion flux and protonmotive force. *J. Anim. Sci.* 1987, 64, 1519–1525.
- RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J. Effect of ionophores on ruminal fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 1–6, 1989.
- ROVICS, J. J. AND ELY, C. M. Response of beef cattle to enzyme supplements. *J. Anim. Sci.* 21: 1012 (Abstr.), 1962.
- SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food chemistry*, 91(4), 621-632, 2005.
- SAED, H. A. R.; IBRAHIM, H. M. M.; EL-KHODERY, S. A.; YOUSSEF, M. A. Relationship between expression pattern of vitamin D receptor, 1 alpha-hydroxylase enzyme, and chemokine RANTES genes and selected serum parameters during transition period in Holstein dairy cows. *Veterinary Record Open*, 7(1), e000339. doi:10.1136/vetreco-2019-000339, 2020.
- SAMUELSON, K. L., M. E. HUBBERT, M. L. GALYEAN, AND C. A. LOEST. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: the 2015 New Mexico State and Texas Tech University survey. *J. Anim. Sci.* 94:2648– 2663. doi:10.2527/jas.2016-0282, 2016.
- SHELLING, G.T. Monensin mode of action in the rumen. *J. Anim. Sci.* 58, 1518–1527, 1984.

SIKKEMA, J.; DE BONT, J. A. M.; POOLMAN, B. Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *J. Biol. Chem.* 269, 8022– 8028, 1994.

SIKKEMA, J.; DE BONT, J.A.M.; POOLMAN, B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Reviews* 59 (2), 201 – 222, 1995.

SILVA, A. S.; CORTINHAS, C. S.; ACEDO, T. S.; MORENZ, M. J. F.; LOPES, F. C. F.; ARRIGONI, M. B., ... & PEREIRA, L. G. R. Effects of feeding 25-hydroxyvitamin D3 with an acidogenic diet during the prepartum period in dairy cows: Mineral metabolism, energy balance, and lactation performance of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2022. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21727>.

SILVESTRE, A. M.; MILLEN, D. The 2019 Brazilian survey on nutritional practices provided by feedlot cattle consulting nutritionists. *REVISTA BRASILEIRA DE ZOOTECNIA*, v. 50, p. e20200189, 2021.

STEEN, W. W, N. GAY, J. A. BOLING, N. W. BRADLEY, J. W. MCCORMICK, AND L. C. PENDLUM. Effect of monensin on performance and plasma metabolites in growing-finishing steers. *J. Anim. Sci.* 46:350–355, 1978.

SOUZA, P. M. & MAGALHÃES, P. O. Application of microbial α -amylase in industry - a review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(4): 850-861, 2010.

SRIKUEA, R.; ZHANG, X.; PARK-SARGE, O. K.; ESSER, K. A. VDR and CYP27B1 are expressed in C2C12 cells and regenerating skeletal muscle: potential role in suppression of myoblast proliferation. *Am J Physiol Cell Physiol* 2012;303:C396–405.

SUJANI, S.; SERESINHE, R.T. Exogenous enzymes in ruminant nutrition: A review. *Asian Journal of Animal Science*, Egito, v.93, n.3, p. 85–99, 2015.

SWANEK, S. S.; J. B. MORGAN; F. N. OWENS; D. R. GILL; C. A. STRASIA; H. G. DOLEZAL; F. K. RAY. Vitamin D₃ supplementation of beef steers increases longissimus tenderness. *J. Anim. Sci.* 77:874–881, 1999.

TANYILDIZI, M.S.; OZER, D.; ELIBOL, M. Optimization of alfa-amylase production by *Bacillus* sp. using response surface methodology *Process Biochem* 40, 2291–2296, 2005.

TEDESCHI, L.O.; FOX, D.G.; TYLUTKI, T.P. Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. *Journal of Environmental Quality*, v.32, n.5, p.1591-1602, 2003.

TESTER, R.F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch—composition, fine structure and architecture. *J. Cereal Sci.* 39, 151–165, 2004.

TOSETI, L. B., GOULART, R. S., GOUVÊA, V. N., ACEDO, T. S., VASCONCELLOS, G. S. F. M., PIRES, A. V., ... SILVA, S. L. Effects of a blend of essential oils and exogenous α -amylase in diets containing different roughage sources for finishing beef cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 114643, 2020.

TRICARICO, J. M.; J. D. JOHNSTON; K. A. DAWSON; K. C. HANSON; K. R. MCLEOD; D. L. HARMON. The effects of an *Aspergillus oryzae* extract containing alpha-amylase activity on ruminal fermentation and milk production in lactating Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 81:365–374, 2005.

TRICARICO, J. M.; ABNEY, M. D.; GALYEAN, M. L.; RIVERA, J. D.; HANSON, K. C.; MCLEOD, K. R.; HARMON, D. L. Effects of a dietary *Aspergillusoryzae* extract containing alpha-amylase activity

on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 85:802– 811. doi:10.1128/AEM.69.8.5011-5014.2003, 2007.

TRICARICO, J. M.; JOHNSTON, J. D.; DAWSON, K. A. Dietary supplementation of ruminant diets with an *Aspergillus oryzae* α -amylase. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1-4), 136-150, 2008.

TURINA, A.V.; NOLAN, M.V.; ZYGADLO, J.A.; PERILLO, M.A. Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. *Biophys. Chem.* 122, 101–113, 2006.

ULTEE, A.; BENNIK, M.H.; MOEZELAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 1561–1568, 2002.

VAN DER MAAREL, M.J.; VAN DER VEEN, B.; UITDEHAAG, J.C.; LEEMHUIS, H.; DIJKHUIZEN, L. Properties and applications of starch-converting enzymes of the alpha-amylase family. *J. Biotechnol.* 94, 137-155, 2002.

VIGNALE, K.; GREENE, E. S.; CALDAS, J. V.; ENGLAND, J. A.; BOONSINCHAI, N.; SODSEE, P.; COON, C. N. 25-hydroxycholecalciferol enhances male broiler breast meat yield through the mTOR pathway. *The Journal of nutrition*, 145(5), 855-863, 2015.

XU, H. J.; JIANG, X.; ZHANG, C. R.; MA, G. M.; WANG, L. H.; ZHANG, Q. Y.; ZHANG, Y. G. Effects of dietary 25-hydroxyvitamin D₃ on the lactation performance, blood metabolites, antioxidant and immune function in dairy cows. *Livestock Science*, 248, 104497, 2021.

WEIMER, P.J.; STEVENSON, D.M.; MERTENS, D.R.; THOMAS, E.E. Effect of monensin feeding and withdrawal on populations of individual bacterial species in the rumen of lactating dairy cows fed high-starch rations. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2008, 80, 135–145.

WEISS, W. P.; STEINBERG, W.; ENGSTROM, M. A. Milk production and nutrient digestibility by dairy cows when fed exogenous amylase with coarsely ground dry corn. *Journal of dairy science*, 94(5), 2492-2499, 2011.

WEISS, W. P.; AZEM, E.; STEINBERG, W.; REINHARDT, T. A. Effect of feeding 25-hydroxyvitamin D₃ with a negative cation-anion difference diet on calcium and vitamin D status of periparturient cows and their calves *J. Dairy Sci.*, 98, pp. 5588-5600/26051311, 2015.

WERTZ, A.E.; KNIGHT, T.J.; TRENKLE, A.; SONON, R.; HORDT, R.L.; HUFFLONERGAN, E.J.; BEITZ, D.C. Feeding 25-hydroxyvitamin D₃ to improve beef tenderness. *Journal of Animal Science*, v. 82, p. 1410-1418, 2004.

WILKENS, M. R.; OBERHEIDE, I.; SCHRODER, B.; AZEM, E.; STEINBERG, W.; Influence of the combination of 25-hydroxyvitamin D₃ and a diet negative in cation-anion difference on periparturient calcium homeostasis of dairy cows *J. Dairy Sci.*, 95, pp. 151-164/22192194, 2012.

YANG, W. Z., B. N. AMETAJ, C. BENCHAAR, M. L. HE, AND K. A. BEAUCHEMIN. Cinnamaldehyde in feedlot cattle diets: intake, growth performance, carcass characteristics, and blood metabolites. *J. Anim. Sci.* 88:1082– 1092, 2010.

ZILIO, E. M.; DEL VALLE, T. A.; GHIZZI, L. G.; TAKIYA, C. S.; DIAS, M. S.; NUNES, A. T.; ... & RENNÓ, F. P. Effects of exogenous fibrolytic and amylolytic enzymes on ruminal fermentation and performance of mid-lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 102(5), 4179-4189, 2019.

CAPÍTULO II

Combinações de óleos essenciais, α -amilase e 25-hidroxitamina D₃ no desempenho e características de carcaça de bovinos F1 Angus-Nelore confinados

RESUMO: O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos da associação de aditivos alimentares no desempenho, características de carcaça, saúde ruminal e qualidade de carne de bovinos terminados em confinamento. Foram utilizados 24 touros mestiços F1 Angus-Nelore (PV_i = \pm 456 kg) distribuídos aleatoriamente em três tratamentos: T1: MON - Monensina sódica (26 mg/kg); T2: BEO+AM - Mistura de óleos essenciais e α – amilase (90 mg/kg e 560 mg/kg, respectivamente) e T3: BEO+AM+HyD - Mistura de óleos essenciais e α -amilase + 25-hidroxitamina D₃ (90 mg/kg, 560 mg/kg e 1 mg/animal/dia, respectivamente). A alimentação com BEO+AM e BEO+AM+HyD aumentou a IMS (<,0001), o PCQ (P = 0,01), o rendimento de carcaça (P = 0,03) e tendeu a aumentar o GPD (P = 0,07) e PV final (P = 0,08) dos animais em comparação com MON, sem diferenças para a eficiência alimentar (P > 0,50). Os aditivos alimentares não afetaram a maioria das características de qualidade da carne, exceto para os valores de *L, que tenderam (P = 0,10) a ser maiores para os animais alimentados com MON. A combinação BEO+AM aumentou as concentrações séricas de Ca total (P = 0,04) e tendeu a aumentar as concentrações de Ca ionizado (P = 0,08), sem diferenças para os níveis de P plasmático (P > 0,05). A alimentação com BEO+AM+HyD aumentou as concentrações séricas de 25-(OH)D₃ (P = 0,002). As concentrações de Ca e P musculares não foram afetadas pelos tratamentos (P > 0,05). Para as variáveis de comportamento ingestivo, os diferentes tratamentos afetaram a maioria das variáveis avaliadas (P < 0,01). Durante o período de adaptação os animais alimentados com BEO+AM e BEO+AM+HyD apresentaram maior pH ruminal médio (P=0,001) e mínimo (P<,0001), menor temperatura (P = 0,05) e passaram menos tempo abaixo de 6,2 (P = 0,0002) e 6,0 (P = 0,04) do que os animais alimentados com MON. Em relação ao período total, os animais alimentados com MON apresentaram menor pH ruminal médio (P<,0001), mínimo (P<,0001), máximo (P<,0001) e maior temperatura (P<,0001) do que os animais alimentados com BEO+AM e BEO+AM+HyD. Além disso, a alimentação com MON aumentou o tempo de duração do pH ruminal abaixo de 6,2 (P<,0001), 6,0 (P<,0001) e 5,8 (P<,0001) e teve maior área abaixo de 6,2 (P<,0001) e 6,0 (P=0,005). Os animais alimentados com MON e BEO+AM apresentaram maior ASA (P = 0,007) e RPSA (P = 0,01) em comparação com BEO+AM+HyD. A combinação de BEO+AM ou ainda BEO+AM+HyD melhorou a saúde ruminal e aumentou o desempenho e a produção de carcaça sem afetar a qualidade de carne em comparação com a MON.

Palavras - chaves: aditivos alimentares, amido, enzimas exógenas, confinamento, monensina sódica

Combinations of essential oils, α -amylase and 25-hydroxyvitamin D₃ on performance and carcass traits of feedlot F1 Angus-Nelore cattle

ABSTRACT: The objective of the study was to evaluate the effects of the association of feed additives on performance, carcass traits, ruminal health and meat quality of feedlot finished cattle. Twenty-four F1 Angus-Nelore crossbred bulls (iBW = \pm 456 kg) were randomly assigned to three treatments: T1: MON - Sodium Monensin (26 mg/kg); T2: BEO+AM - Blend of essential oils and α -amylase (90 mg/kg and 560 mg/kg, respectively) and T3: BEO+AM+HyD - Blend of essential oils and α -amylase + 25-hydroxyvitamin D₃ (90 mg/kg, 560 mg/kg and 1 mg/animal/day, respectively). Feeding with BEO+AM and BEO+AM+HyD increased DMI ($<.0001$), HCW ($P = 0.01$), dressing percentage ($P = 0.03$) and tended to increase ADG ($P = 0.07$) and final BW ($P = 0.08$) of the animals compared to MON, without differences for feed efficiency ($P > 0.50$). Feed additives did not affect most meat quality traits, except for *L values, which tended ($P = 0.10$) to be higher for animals fed MON. The combination BEO+AM increased serum total Ca concentrations ($P = 0.04$) and tended to increase ionized Ca concentrations ($P = 0.08$), with no differences for plasma P levels ($P > 0.05$). Feeding BEO+AM+HyD increased serum 25-(OH)D₃ concentrations ($P = 0.002$). Muscle Ca and P concentrations were not affected by treatments ($P > 0.05$). For the ingestive behavior variables, the different treatments affected most of the evaluated variables ($P < 0.01$). During the adaptation period, animals fed with BEO+AM and BEO+AM+HyD had greater rumen mean rumen pH ($P=0.001$) and minimum ($P<.0001$), lower temperature ($P=0.05$) and spent less time below 6.2 ($P = 0.0002$) and 6.0 ($P = 0.04$) than animals fed MON. Regarding the total period, animals fed MON had lower mean rumen pH ($P<.0001$), minimum ($P<.0001$), maximum ($P<.0001$) and higher temperature ($P<.0001$) than animals fed BEO+AM and BEO+AM+HyD. In addition, feeding MON increased time duration of rumen pH below 6.2 ($P<.0001$), 6.0 ($P<.0001$) and 5.8 ($P<.0001$) and had greater area below 6.2 ($P<.0001$) and 6.0 ($P=0.005$). Animals fed MON and BEO+AM had higher ASA ($P = 0.007$) and papillae area in percentage of ASA ($P = 0.01$) compared to BEO+AM+HyD. The combination of BEO+AM or BEO+AM+HyD improved ruminal health and increased performance and carcass production without affecting meat quality compared to MON.

Key words: feed additives, starch, exogenous enzymes, feedlot, sodium monensin

1 INTRODUÇÃO

Segundo levantamentos realizados junto a nutricionistas de confinamentos de bovinos de corte, a monensina sódica (MON) é o aditivo mais utilizado nas dietas de terminação brasileiras (Oliveira e Millen, 2014; Pinto e Millen, 2019; Silvestre e Millen, 2021) e americanas (Samuelson et al., 2016). No levantamento realizado por Silvestre e Millen (2021), apenas 5,7% dos consultores nutricionistas de confinamento recomendavam a utilização de óleos essenciais (OE) e somente 2,9% utilizavam outros aditivos como leveduras ou taninos nas dietas de terminação.

A utilização da MON nos sistemas de produção pecuária é apoiada por vários anos de pesquisas que comprovam os benefícios da sua utilização, sobretudo por meio da modulação da fermentação ruminal (Dinius et al., 1976; Dennis et al., 1981) e aumento da eficiência alimentar (GOODRICH et al., 1984; DUFFIELD et al., 2012). No entanto, a crescente preocupação dos consumidores quanto ao uso de ionóforos na alimentação animal vem gerando nos últimos anos consideráveis esforços no desenvolvimento de alternativas capazes de melhorar a taxa, eficiência e/ou qualidade do ganho, o desempenho, prevenir certos distúrbios metabólicos e ao mesmo tempo manter a segurança alimentar.

Compostos alternativos, como os mistura de óleos essenciais (BOE) foram avaliados como novos aditivos alimentares que podem alterar os padrões de fermentação ruminal e melhorar o desempenho dos animais (ORNAGHI et al., 2017; DE SOUZA et al., 2018; TOSETI et al., 2020). Além disso, a adição de α -amilase (AM) exógena foi proposta para otimizar a utilização de amido em dietas de confinamento (Tricarico et al., 2008), mas os resultados ainda são inconsistentes (TRICARICO et al., 2007; DILORENZO et al., 2011). Alguns estudos com vacas de leite suplementadas com AM demonstraram aumento da produção de leite, melhora no balanço energético e melhor conversão da dieta em leite (GENCOGLU et al., 2010; ANDREAZZI et al., 2018).

A combinação de um BEO e AM na alimentação de bovinos confinados resultou em maior ganho de peso diário (GPD) e peso de carcaça quente (PCQ) em comparação com a MON, sobretudo devido a maior ingestão de energia e a maior digestibilidade dos nutrientes no trato total (MESCHIATTI et al., 2019). De acordo com Gouvêa et al. (2019a), a associação de BEO e AM resultou em animais com carcaças mais pesadas em comparação com a MON, devido à maior ingestão de energia e maior absorção de N.

A 25-hidroxitamina D₃ (25(OH)D₃) foi proposta para aumentar a produção de carcaça (Acedo et al., 2018) e a maciez da carne (LAWRENCE et al., 2006). Estudos anteriores observaram que a suplementação com 25(OH)D₃ aumentou o desempenho de bovinos em terminação intensiva a pasto (Gouvêa et al., 2019b) ou na recria em pastagem (NIEHUES et al., 2021) ou ainda, resultou em maior produção de carcaça em confinamento (CARVALHO e PERDIGÃO, 2019). Lawrence et al. (2006), observaram que a suplementação de 25(OH)D₃ melhora a maciez da carne bovina. Por outro lado, Wertz et al. (2004) não observaram melhorias na maciez da carne com a suplementação de 25(OH)D₃.

Com base nas pesquisas acima descritas foi hipotetizado que a alimentação de bovinos confinados durante o período de terminação com uma combinação de BEO+AM melhora a saúde

ruminal e conseqüentemente aumentaria o desempenho animal e a produção de carcaça. Também hipotetizamos que a suplementação de 1 mg/animal/dia de 25(OH)D₃ em combinação com BEO+AM causaria um efeito aditivo para a produção de carcaça e melhoraria a maciez da carne por meio do aumento do Ca plasmático e muscular.

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a inclusão de monensina sódica ou a combinação de óleos essenciais e amilase exógena, ou ainda a associação de óleos essenciais, amilase exógena e 25-hidroxivitamina D₃ em dietas com alto teor de amido sobre o desempenho, características de carcaça, saúde ruminal e qualidade de carne de bovinos mestiços F1 Angus-Nelore confinados.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo do presente estudo foi avaliar a inclusão de monensina sódica ou a combinação de óleos essenciais e amilase exógena, ou ainda a associação de óleos essenciais, amilase exógena e 25-hidroxivitamina D₃ em dietas com alto teor de amido na alimentação de bovinos mestiços F1 Angus-Nelore confinados.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o desempenho e a produção de carcaça;
- Avaliar o comportamento ingestivo;
- Avaliar a saúde ruminal por meio da morfologia das papilas do rúmen e dinâmica do pH rumino-reticular.
- Avaliar as concentrações plasmáticas e musculares de Ca, P e 25-hidroxivitamina D₃; e,
- Avaliar a qualidade da carne.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado conforme normas da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Inovação da Tortuga, DSM Produtos Nutricionais Brasil S.A., sob protocolo n° 003/19.

3.1 Animais e local experimental

O estudo foi conduzido nas instalações de confinamento do Centro de Inovação da Tortuga – DSM, I&AS Beef Center (Fazenda Caçadinha, Rio Brillhante, Mato Grosso do Sul, Brasil) com 24 bovinos, machos, não castrados, mestiços F1 Angus-Nelore (PVi ± 456 kg; Idade ± 18 meses), provenientes de recria suplementada à pasto. Os animais foram alocados em uma baia de 810 m² (33,75 m² /animal), contendo 3 cochos eletrônicos, aos quais foram distribuídos aleatoriamente (8

animais/cocho). A baía continha um bebedouro com capacidade de 650 L (3,00 x 0,80 m), com boia de vazão total, permitindo a reposição contínua de água. Além disso foi instalada na baía uma Plataforma Bosch de Pecuária de Precisão para a pesagem diária dos animais. A baía continha uma cerca divisória, onde de um lado estavam os cochos de alimentação e do outro o bebedouro, ambos eram conectados por um corredor de passagem único onde estava fixada a plataforma de pesagem. Desta forma, os animais transitavam pelo corredor e conseqüentemente eram pesados. Na Figura 2, pode ser observado o desenho das instalações.



Figura 2 - Uma cerca dividia a baía em duas áreas, onde de um lado se encontrava o bebedouro e do outro os cochos de alimentação. Ambos eram conectados por um corredor de passagem único, no qual a Plataforma de pesagem Bosch® estava fixada. 1 - Sombrite. 2 - Bebedouro. 3 - Corredor de passagem dos animais. 4 - Plataforma de pesagem. 5 - Cerca de divisão da baía. 6 - Cochos eletrônicos de alimentação do sistema Intergado.

3.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, totalizando 3 tratamentos com 8 repetições/cada. O animal foi considerado a unidade experimental. Os tratamentos foram os seguintes: **T1: Monensina sódica (MON)**; **T2: Mistura de óleos essenciais e α - amilase (BEO+AM)** e **T3: Mistura de óleos essenciais e α - amilase + 25-hidroxivitamina D₃ (25-(OH)D₃) (BEO+AM+HyD)**.

A monensina sódica (Elanco Animal Health, Indianapolis, IN) utilizada foi incluída na dieta na dose de 26 ppm/kg da matéria seca. A mistura de óleos essenciais (CRINA Ruminants; DSM Produtos nutricionais, Basel, Suíça) que continha timol, eugenol, limoneno e vanilina (Mcintoch et al., 2003), enzima exógena α -amilase (RONOZYME Rumistar; DSM Produtos nutricionais, Basel, Suíça) foram adicionadas na dieta na dose de 90 mg/kg da matéria seca, 560 mg/kg da matéria seca, respectivamente e a 25-(OH)D₃ a 1 mg/animal/dia (equivalente a 40.000 UI de vitamina D₃/dia; Rovimix Hy-D 1,25%, DSM Produtos nutricionais, Basel, Suíça).

3.3 Manejo, arraçoamento e cuidados com os animais

O programa de recebimento dos animais consistiu em pesagem, vermifugação e vacinação conforme calendário profilático anual. Posteriormente, os animais foram alocados na baia 15 dias antes do início do experimento para serem aclimatados com as instalações e ao sistema individual de coleta de dados dos cochos eletrônicos. No d-0, os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), onde os animais dentro dos tratamentos foram distribuídos em cochos específicos durante todo o período experimental de 102 dias. Em seguida, os animais foram submetidos ao protocolo de adaptação em escada (*step-up*) por 14 dias, que consistiu no fornecimento de níveis crescentes de concentrado na dieta: 1º período com duração de 5 dias onde receberão 75% de concentrado, 2º período com duração de 4 dias onde receberão 80% de concentrado e 3º período com duração de 5 dias onde receberão 85% até atingir o nível desejado para a dieta de terminação com 90% de concentrado, com duração de 88 dias, totalizando 102 dias de confinamento.

As dietas foram formuladas segundo o sistema LRNS (*Large Ruminant Nutrition System*, Fox et al., 2004), nível 2, atendendo as exigências nutricionais, esperando-se GPD de 1,50 a 1,70 kg/dia/animal (Tabela 1). O arraçoamento foi feito duas vezes ao dia: às 10:00 (50% do total) e 15:00 (50% do total), com água *ad libitum*. As dietas experimentais foram compostas por bagaço de cana-de-açúcar *in natura*, milho moído, casca de soja, caroço de algodão, farelo de soja, núcleo mineral-vitamínico e aditivos. Ao longo do período experimental foram realizadas amostragens semanais das rações para a análise bromatológica de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), e matéria mineral (MM) segundo AOAC (1990) e fibra em detergente neutro (FDN) segundo Van Soest et al. (1991).

3.4 Manejo da ingestão de matéria seca e comportamento ingestivo dos animais

O consumo e o comportamento alimentar individual foram medidos diariamente utilizando o sistema de monitoramento Intergado (Intergado Ltda., Contagem, Minas Gerais, Brasil) (Figura 3). No início do experimento cada animal recebeu uma *tag* com transponder passivo (FDX - ISO 11784/11785; Allflex; Joinville, SC, Brasil) na orelha direita, com transmissores de RFID (Radio Frequency Identification). Os cochos eletrônicos (modelo AF1000 Master, Intergado Ltd, Contagem, Minas Gerais, Brasil) eram compostos de plástico de polietileno acoplados em estrutura confeccionada a partir de alumínio extrudado. Estes equipamentos ficavam apoiados sobre células de carga e em conjunto com sensores e coletores decodificavam via RFID a informação que estava contida nas *tags*, permitindo ou não a abertura da porta para acesso a dieta. Sendo assim, a porta do cocho era liberada somente se o animal pertencesse aquele cocho/tratamento.

Portanto, o sistema enviava automaticamente os dados de consumo coletados para a nuvem, onde estas informações ficavam armazenadas e eram enviadas em tempo real para o sistema Intergado, o qual era responsável por realizar a análise estatística e disponibilizar as informações *online* para acesso remoto e a qualquer momento. Descrição completa do equipamento para medição de consumo e validação do sistema para bovinos foram descritos por Chizzotti et ai. (2015).



Figura 3 – Animais consumindo individualmente nos cochos de alimentação eletrônicos do sistema Intergado.

As rações eram fornecidas *ad libitum* e submetidas a ajustes de quantidade diariamente, com base na quantidade de sobra nos cochos antes da primeira refeição (6:00), a qual era mantida em 3 a 5% da quantidade oferecida no dia anterior. A determinação da ingestão de matéria seca (IMS) era efetuada diariamente por meio da coleta de amostra da dieta total de cada tratamento e secagem em estufa MARCONI à 105 °C por 24 horas.

Além do consumo de MS, o sistema registrava o comportamento ingestivo dos animais diariamente: visita ao cocho com consumo e tempo de consumo. A cada 15 dias foram coletadas amostras da dieta congeladas e posteriormente analisadas para MS (AOAC, 1990) e FDN (VAN SOEST, 1991), de forma a determinar a quantidade ingerida destes nutriente pelos animais. Com isso, foi possível calcular no final do experimento a eficiência de alimentação da matéria seca; eficiência de alimentação da FDN; tempo de alimentação por refeição e IMS por refeição, onde foram utilizadas as equações descritas por Carvalho et al. (2006):

$$EALMS = \frac{TAL}{IMS} \quad EALFDN = \frac{TAL}{IFDN}$$

em que: EALMS = Eficiência de alimentação da matéria seca (min/kg de massa seca); TAL = Tempo despendido em alimentação (min); IMS = Ingestão de matéria seca do dia (kg); EALFDN = Eficiência de alimentação da FDN (min/kg da FDN); IFDN = Ingestão de FDN do dia (kg).

$$TALREF = \frac{TAL}{REF} \quad IMSREF = \frac{IMS}{REF}$$

em que: TALREF = Tempo de alimentação despendido em cada refeição (min); TAL = Tempo despendido em alimentação (min); REF = Número de refeições por dia; IMSREF = Ingestão de matéria seca por refeição (kg); IMS = Ingestão de matéria seca do dia (kg).

Tabela 1 - Ingredientes e conteúdo nutricional das dietas de terminação fornecidas aos animais durante o estudo

Fases	ADAP 1	ADAP 2	ADAP 3	TERM
Item				
Ingredientes, % da MS ¹				
Bagaço de cana-de-açúcar	25,00	20,00	15,00	10,00
Farelo de soja	7,00	7,50	7,50	7,50
Milho moído	41,00	56,50	67,00	77,50
Casca de soja	16,00	6,00	2,50	-
Caroço de Algodão	6,00	5,00	3,00	-
Suplemento mineral e vitamínico ^{1,2}	5,00	5,00	5,00	5,00
Conteúdo Nutricional, % da MS				
Matéria seca	53,50	59,00	61,00	68,00
Proteína Bruta	14,60	14,50	14,40	14,20
Fibra em detergente neutro	39,31	33,50	26,67	18,30
FDNfe ³	31,00	23,00	19,00	15,00
Fibra em detergente ácido	27,00	21,40	18,12	9,85
Extrato etéreo	3,50	3,90	3,74	3,00
Amido	29,11	40,12	47,57	55,03
Nutrientes digestíveis totais ⁵	69,00	74,00	77,00	81,00
ELm ⁵ , Mcal/kg	1,61	1,75	1,85	1,96
ELg ⁵ , Mcal/kg	1,01	1,13	1,22	1,31

¹Suplemento mineral e vitamínico contendo os tratamentos dietéticos: MON = monensina sódica (26 mg/kg MS); BOE+AM = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena (90 e 560 mg / kg de MS, respectivamente); BOE+AM+HyD = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena + 25-hidroxicolecalciferol (90 e 560 mg/kg de MS e 1 mg/animal/dia, respectivamente). A monensina sódica (Rumensin) era da Elanco Animal Health, Indianapolis, IN. A mistura de óleos essenciais (CRINA Ruminants), as enzima exógena (α -amilase [RONOZYME RumiStar] e a 25-hidroxicolecalciferol (Rovimix Hy-D), foram fornecidas pela DSM Produtos nutricionais, Basel, Suíça. ²O suplemento mineral e vitamínico foi composto (por kg de MS) de 700 (equivalente proteico) de NNP/kg, 130 g/kg Ca, 12 g/kg P, 27 g/kg S, 15 g/kg Mg, 25 g/kg K, 42 g/kg Na, 6 mg/kg Co, 400 mg/kg Cu, 5,00 mg/kg Cr, 20 mg/kg I, 800 mg/kg Mn, 5,00 mg/kg Se, 1,500 mg/kg Zn, 125.000 UI / kg de vitamina A, 12.500 UI/kg de vitamina D₃, 1.300UI/kg de vitamina E, 67 mg/kg de biotina, $2,0 \times 10^9$ UFC/kg *Saccharomyces cerevisiae*. Fabricado por DSM Nutritional, Produtos, São Paulo, Brasil. ⁴MS: Matéria seca; ³FDNfe: FDN fisicamente efetiva. ⁵NDT, ELm e ELg foram estimados pelo LRNS com adição de ionóforo.

3.5 Mensuração contínua de pH rumino-reticular

No dia 0, foram selecionados aleatoriamente 4 animais dentro de cada tratamento para receber um *bolus* rumino-reticular medidor de pH e temperatura (smaXtec Premium Bolus, smaXtec Animal Care GmbH, Graz, Áustria) (CROSSLAND et al., 2019). O ID do *bolus* foi atribuído ao brinco de identificação visual de cada animal. O *bolus* foi calibrado usando uma solução tampão de pH 7 por um período mínimo de 5 min e inserido por via oral usando um aplicador específico, conforme orientações do fabricante.

O *bolus* media diariamente uma leitura média de pH e temperatura continuamente em intervalos de 10 minutos. Os dados das medições eram monitorados por meio de um sistema de transmissão de dados permanente e sem fio (smaXtec animal care GmbH, Graz, Áustria). Após mensurados, os dados eram armazenados no sensor premium smaXtec e direcionados para a estação base, responsável por transmitir automaticamente para a smaXtec *cloud*, onde os dados eram analisados e então, disponibilizados em tempo real. Isso permitia a exibição contínua e simultânea dos dados, possibilitando desta forma, acompanhar e monitorar diariamente alterações no pH rumino-reticular dos animais. Ao final dos 102 dias de experimento, os dados de cada animal foram baixados do smaXtec Messenger, visualizados no Software Excel, onde foram calculados diariamente para cada animal: pH mínimo, médio, máximo, tempo e área em que o pH permaneceu abaixo de 5,8; 6,0 e 6,2, segundo Crossland et al., (2019).

3.6 Concentrações séricas de 25-(OH)D₃, cálcio total, cálcio ionizado e fósforo

Para avaliar as mudanças na concentração sorológica de 25-(OH)D₃, cálcio total, cálcio ionizado e fósforo nos diferentes tratamentos, foram coletadas amostras de sangue da veia caudal de 4 animais por tratamento no dia 0 e no último dia do período experimental. Para as coletas de sangue foram utilizadas agulhas vacutainer 25 x 0,8 mm (Vacuplast - Shandong, China) e tubos com vácuo (BD Vacutainer collect line, Franklin lakes, NJ, EUA) contendo ativador de coágulo, e, em seguida, centrifugadas em velocidade de 3000 rpm por 15 minutos, e uma alíquota de 0,5 mL de soro foi colocada em tubos eppendorf. Em seguida, as amostras de soro foram congeladas em temperatura -80° e enviadas ao laboratório para a determinação das concentrações de 25-OHD₃, cálcio total, cálcio ionizado e fósforo.

A determinação das concentrações de 25-OHD₃ e cálcio ionizado foram feitas por meio do método de quimiluminescência e método bioquímico por química seca, respectivamente (Laboratório de Análises Clínicas Oswaldo Cruz, Taubaté, SP, Brasil). Já as análises de cálcio total e fósforo foram utilizados os kits Bioclin Biocontrol Cálcio Arsenazo III e P, por meio da metodologia colorimétrica de ponto final – Arsenazo III e metodologia de Fosfomolibdato UV, respectivamente (Laboratório Clínico Veterinário – FMVZ, Unesp, Botucatu, SP, Brasil).

3.7 Desempenho produtivo e características de carcaça

O peso vivo foi determinado diariamente por meio de uma plataforma de pesagem (Bosch®) (Figura 4) instalada na baia do confinamento. Para isso, no início do experimento todos os animais foram identificados com um brinco único do sistema Bosch, que possuía tecnologia RFID de alta frequência (UHF), o que permitia a leitura dos animais de forma individualizada.

Ao final de 102 dias de confinamento, foram realizadas as medidas da área de olho de lombo (AOL), espessura da gordura subcutânea (EGS), gordura de marmoreio e espessura da gordura da picanha (P8) por meio de ultrassom (ALOKA SSD 100 VET®, Aloka, Japão), utilizando uma sonda linear de 17 cm, em uma frequência de 3,5 MHz. A AOL foi medida em corte transversal na 12ª costela, a EGS foi medida em corte longitudinal na 12ª costela e P8 foi medida em corte longitudinal na garupa. As imagens ultrassonográficas foram coletadas e analisadas por um técnico certificado usando o software BIA/DGT Brasil. Posteriormente, os animais foram transportados para um abatedouro comercial (Bataguassu, MS, Brasil), localizado a uma distância de 263 km do local do experimento. Os procedimentos de abate seguiram os padrões adotados pelo frigorífico de acordo com a legislação vigente para o abate de bovinos.

Para avaliação de desempenho, os dados de peso vivo individual de todos os animais foram obtidos online por meio do sistema Bosch e visualizados utilizando o software Excel. Para os dados de peso vivo inicial (PVi) e final (PVF) foram descontados 4% como preenchimento ruminal, para então calcular o ganho de peso diário (GPD) e ganho diário em carcaça (GDC). O ganho total de carcaça, expresso em kg, foi determinado pela diferença entre o peso da carcaça quente final (PCQ final) e peso da carcaça quente inicial (PCQ inicial), que foi estimado considerando um rendimento teórico inicial de carcaça de 50 kg/100 kg⁻¹ PV (PCQ inicial = PVi*0,50). O rendimento de carcaça foi calculado dividindo-se o PCQ final pelo PVF em jejum. Com base no período de confinamento de 102 dias, também foi calculado o ganho médio diário de carcaça (kg dia⁻¹), obtido pela razão entre ganho total de carcaça e período de confinamento; a eficiência de transformação matéria seca-carcaça (kg MS/kg carcaça⁻¹), como a razão entre IMS e @ produzidas; o rendimento do ganho de carcaça (kg/kg⁻¹), como a razão entre o ganho médio diário de carcaça e o GPD; e, eficiência de ganho de carcaça (kg/kg⁻¹) como a razão entre o ganho médio diário de carcaça e a IMS.

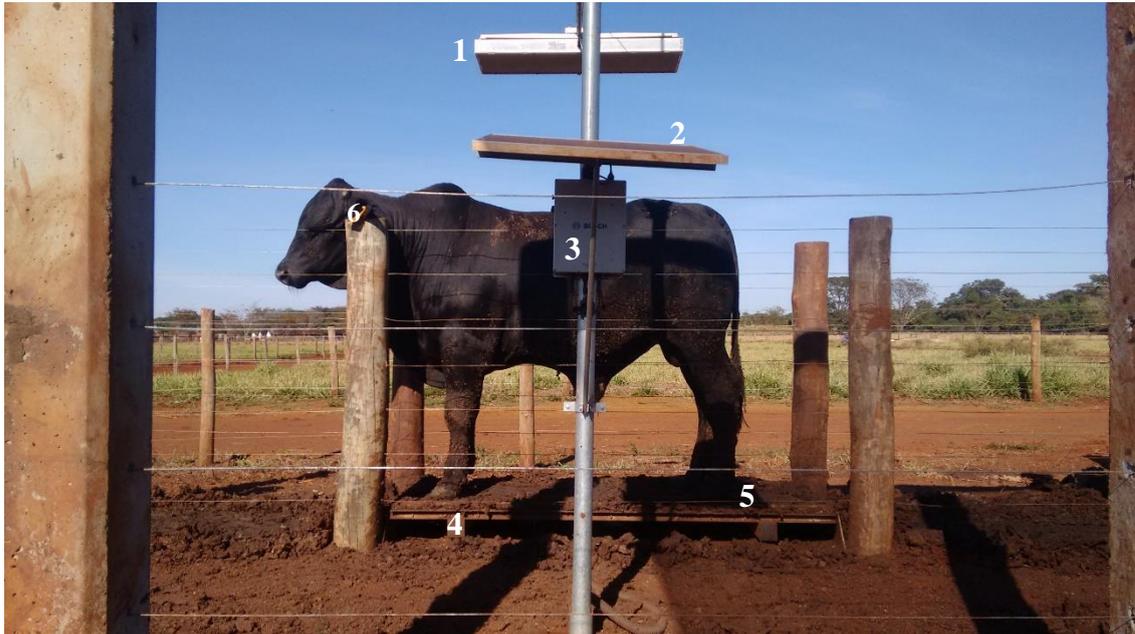


Figura 4 – Plataforma de pesagem Bosch instalada na baía do confinamento. 1 – Leitora de identificação. 2 – Painel solar. 3 – Unidade de processamento. 4 – Sensores de pesagem. 5 – Plataforma de pesagem. 6 – Brinco de identificação do animal.

3.8 Energia líquida de ganho e manutenção

As energias líquidas de manutenção (ELm) e energia líquida de ganho (ELg) foram calculadas com os dados médios de peso vivo, IMS e GPD dos animais de todo o período de confinamento. As equações utilizadas seguiram a metodologia descrita por Zinn e Shen (1998):

1. $Eg = (0,0557 * PC^{0,75}) * GPD^{1,097}$ (NRC, 1984);
2. $Em = (0,077 * PC^{0,75})$ (Lofgreen e Garrett, 1968);
3. $ELm = (-b - \frac{b^2 - \frac{4*a*c^{0,5}}{2*a}}{2*a})$ (Zinn e Shen, 1998);
4. $ELg = 0,877 * ELm - 0,41$ (Zinn e Shen, 1998).

em que: Eg = exigência em energia para ganho (Mcal/dia); PC = peso corporal vazio (kg); GPD = ganho de peso diário (kg); Em = exigência em energia para manutenção (Mcal/dia); ELm = energia líquida de manutenção da dieta (Mcal/kg de MS); $b = (0,877 * Em) + (0,41 * CMS) + Eg$; IMS = ingestão de matéria seca (kg); $a = (-0,41 * Em)$; $c = (-0,877 * IMS) + (0,41 * IMS) + Eg$; ELg = energia líquida de ganho da dieta (Mcal/kg de MS).

Os valores obtidos pelas equações de energia líquida de ganho foram relacionados com o valores médio da energia líquida de ganho e manutenção, estimados pelo LRNS (FOX et al. 2004).

3.9 Incidência de rumenites e Abscessos hepáticos

Para as avaliações das incidências de rumenites, o epitélio ruminal foi classificado conforme a incidência de lesões com base em uma escala de 0 a 10 pontos (Bigham e Mcmanus, 1975), onde foram considerados rúmens lesionados entre 1 e 10: falhas no epitélio ruminal, papilas em hiperqueratose, inflamações e alteração na coloração do epitélio e das papilas. A classificação do epitélio ruminal foi realizada por um profissional da UNESP – Botucatu, treinado para este fim.

Com relação aos abscessos hepáticos, estes foram classificados de acordo com a sua severidade em uma escala de 0 a 3, segundo Brink et al. (1990), onde 0 para fígados sem abscessos; A-(1) para fígados com um ou dois pequenos abscessos menores que 2,5 cm de diâmetro ou cicatrizes de abscessos; A(2) para fígados com dois a quatro abscessos ativos, pouco menores que 2,5 cm de diâmetro; A+(3) para fígados com um ou mais abscessos maiores que 2,5 cm de diâmetro e porções do diafragma aderidos a superfície do fígado. A classificação dos abscessos foi realizada por um técnico treinado, no frigorífico.

3.10 Morfologia das papilas do rúmen

Para avaliar a morfologia papilas ruminais, uma amostra de aproximadamente 5 cm² foi coletada da região do saco cranial do rúmen dos 24 animais. As amostras foram imediatamente colocadas em frascos (Coletor Universal Estéril – 80 mL) identificados com o número do animal, contendo solução de álcool 70%, lacrando-os e armazenando-os em caixas de isopor para transporte ao laboratório. Ao chegar no laboratório as amostras foram lavadas em água corrente e colocadas nos frascos com uma nova solução de álcool 70% e então, mantidas sobre refrigeração até a realização das mensurações macroscópicas da parede ruminal. As variáveis morfológicas foram: número médio de papilas (NMP), área média de papilas (AMP), área total de superfície absorptiva (ASA) e representatividade das papilas ruminais na área total de superfície absorptiva (RPSA).

Para cálculo das variáveis de interesse, com o auxílio de bisturis foi cortado um fragmento de aproximadamente 1 cm² de cada amostra de rúmen coletada, sendo transferidos para placas de petri identificadas com o número do animal e realizado a contagem do número de papilas, onde cada fragmento passou pela contagem de 4 pessoas diferentes, obtendo-se ao final o NMP de cada animal. Em seguida, 12 papilas de cada fragmento foram seccionadas aleatoriamente da base, e juntamente com a face parietal externa do fragmento foram geradas imagens digitalizadas nas quais foram mensuradas a área da base de cada fragmento e a AMP utilizando o Software de análise de imagens UTHSCSA ImageTool 3.0 (Resende Júnior et al., 2006). O valor final foi à área média das doze papilas. A área total de superfície absorptiva e a representatividade das papilas ruminais na área total de superfície absorptiva foi calculada pela seguinte fórmula:

$$1. \text{ ASA} = 1 + (\text{NMP} * \text{AMP}) - (\text{NMP} * 0,002)$$

$$2. \text{ RPSA} = \frac{\text{NMP} * \text{AMP}}{\text{ASA}} * 100$$

em que: ASA = Área de Superfície absorptiva do epitélio (cm²); RPSA = representatividade das papilas ruminais na área total de superfície absorptiva (%); NMP = Número médio de papilas; AMP = Área média de papilas (cm²); o número 1 representa o fragmento de 1 cm² coletado e o 0,002 a área basal estimada de cada papila ruminal (Daniel et al. 2006).

3.11 Determinação de cálcio e fósforo no tecido muscular

As análises de cálcio e fósforo no tecido muscular foram realizadas no Laboratório de Bioanalítica e Metaloproteômica – Unesp, Botucatu, SP, Brasil, por espectrometria de absorção atômica em chama e por espectrofotometria no visível, respectivamente, após mineralização ácida das amostras. As condições utilizadas na mineralização das amostras foram as descritas por Neves et al., 2009, com algumas modificações, descritas resumidamente a seguir: cerca de 100 mg de amostras foram transferidas para frascos de digestão de 25 mL. Adicionou-se em seguida, em cada frasco, 2,00 mL de ácido nítrico 14 mol L⁻¹ e 0,50 mL de peróxido de hidrogênio 30% (m/m). Posteriormente, a mistura foi aquecida em bloco digestor a 180 °C até a completa mineralização das amostras (extrato transparente). Após resfriamento à temperatura ambiente, os extratos ácidos (volume final de aproximadamente 6,50 mL) foram transferidos para balões volumétricos de 25,00 mL e completaram-se os volumes com água ultrapura. Posteriormente, as determinações das concentrações de cálcio foram feitas em espectrômetro SHIMADZU AA-6800, equipado com corretor de absorção de fundo com deutério lâmpada e sistema SR, utilizando-se as condições experimentais/operacionais descritas também por Neves et al., 2009. No caso das determinações de fósforo, utilizou-se o método espectrofotométrico do ácido vanadomolibdicofosfórico. Esse método fundamenta-se na reação de íons ortofosfato, em meio ácido, com íons molibdato e vanadato com consequente formação de um heteropoliácido complexo de cor amarela. Tal complexo absorve radiação visível em 420 nm, comprimento de onda correspondente à cor violeta, complementar da cor verde amarelado. A intensidade de radiação absorvida pelo heteropoliácido complexo é proporcional à quantidade de ortofosfato (H₂ PO₄²⁻) e/ou fósforo presente nos extratos ácidos (MORAES et al., 2009).

3.12 Histologia do tecido muscular

Para determinar a área média das fibras musculares, amostras do músculo *Longissimos Thoracis* das meias carcaças esquerdas de todos os animais foram coletadas logo após o abate. Após a coleta, as amostras foram processadas em fragmentos de aproximadamente 1,0 cm de comprimento por 0,5 cm de espessura, e em seguida, foram acondicionadas em tubos criogênicos identificados e armazenadas em botijão de nitrogênio líquido, para posterior análise microscópica das fibras, como descrita por Costa et al., (2019).

Posteriormente, as amostras foram transferidas para a câmara de um micrótomo criostato da marca Leica, modelo 1859, permanecendo a -20°C por aproximadamente 45 minutos. Em seguida, foram fixadas perpendicularmente a um suporte metálico utilizando-se resina *Tissue Freezing Medium* (Leica),

e submetidas a uma série de cortes histológicos com 10 µm de espessura, os quais foram colhidos em lâminas histológicas mantidas à temperatura ambiente. As lâminas foram fixadas e coradas de acordo com o método Hematoxilina-Eosina (HE), de acordo com o seguinte protocolo: lavagem das lâminas por cinco minutos em água corrente, submersão em hematoxilina por cinco minutos, posterior lavagem por cinco minutos em água corrente, submersão em eosina por 55 segundos, lavagem em água corrente por 30 segundos, e posterior submersão em bateria de álcool 90%, 95%, 100%, mistura de álcool/xilol, xilol I, xilol II e xilol III. Posteriormente as lâminas foram analisadas e fotografadas em dez campos microscópicos, ao longo de toda a lâmina, para a obtenção do maior número de dados possível, utilizando-se uma câmera acoplada a um microscópio óptico da marca Leica, modelo DFC 300 FX com objetiva de 20x. Para determinação da área das fibras musculares, foram mensuradas 200 fibras por animal (Maresca et al., 2019), por meio do uso do software Image J.

3.13 Análises de qualidade da carne

Para as análises de qualidade de carne as amostras foram retiradas na porção distal do músculo *Longissimus Thoracis* a partir da 12ª costela em sentido caudal das meias carcaças esquerda de todos os animais. As amostras foram cortadas em bifês de 2,54 cm de espessura, identificadas individualmente, embaladas a vácuo e congeladas para análises posteriores. As análises dos itens 3.13.1 e 3.13.2, foram realizadas no Laboratório de Ciência da Carne do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal – FMVZ/UNESP, Botucatu/SP. Já as análises do item 3.13.3 foram realizadas no Laboratório de Tecnologia dos Produtos de Origem Animal – FCA/UNESP, Botucatu/SP.

3.13.1 Cor objetiva e pH

Para a determinação objetiva da cor da carne dos bovinos, as amostras foram descongeladas a 4 °C por 24 h e expostas ao oxigênio por 30 min a 4 °C. Inicialmente, a coloração da carne (luminosidade $L^* = 0$ preto, 100 branco, intensidade $a^* =$ croma que varia do verde (-) ao vermelho (+), intensidade $b^* =$ que varia do azul (-) ao amarelo (+)) foi medida usando o sistema CIELab do colorímetro CR-400 (fonte de luz A, ângulo de absorbância 10 °C, Y, 0,01 a 160,00 % de refletância; Konica Minolta Sensing, Inc., Tóquio, Japão), seguindo os procedimentos descritos por Baldassini et al. (2017). O colorímetro foi calibrado usando uma placa branco padrão e, em seguida, três leituras de cores foram realizadas na superfície da amostra do músculo *Longissimus Thoracis*. Uma média das três medidas foi gerada para cada variável (L^* , a^* e b^*). Em seguida, no mesmo bife o pH da carne foi medido usando um medidor de pH digital Hanna (Modelo HI 99163, Hanna Instruments, Woonsocket, RI) com sonda de penetração.

3.13.2 Força de Cisalhamento e Perdas por Cocção

A força de cisalhamento (FC) das amostras de carne foi determinada seguindo metodologia previamente descrita (Shackelford et al., 1999) utilizando as amostras de carne previamente coletadas.

Para a determinação da FC os bifes foram descongelados em geladeira a 4 °C por 24 horas, pesados e assados em forno industrial elétrico até atingir 71 °C em seu centro geométrico, monitorados com o auxílio de termopares digitais. Em seguida, quando os bifes atingiram a temperatura ambiente foram novamente pesados para se calcular as perdas por cocção. Na determinação da FC foi utilizado texturometro digital Brookfield CT-3 Texture Analyzer (AMETEK Brookfield) equipado com lâmina Warner-Bratzler Shear Force.

Os bifes assados foram embalados e resfriados em refrigerador doméstico a 4 °C. Após 12 horas sob refrigeração, foram então retirados com o auxílio de um vazador, oito cilindros de 12 mm no sentido longitudinal as fibras musculares de cada bife para determinação da FC no aparelho Warner-Bratzler. O shearing foi conduzido em cilindros de ½ polegada, retirados da região central da amostra em sentido longitudinal às fibras musculares. Foram realizadas oito medidas por amostra a fim de se obter maior precisão nos resultados obtidos que foram expressos, neste ensaio, em quilogramas (kg).

3.13.3 Composição centesimal

As análises da composição centesimal do músculo *Longissimus Thoracis* foi realizada utilizando o equipamento FoodScan LabTM (Foss NIRSystems, Inc., EUA). Para isso, as amostras foram descongeladas a 4 °C por 24 h e a gordura subcutânea e tecido conjuntivo visíveis foram removidos com o auxílio de um bisturi. Em seguida, os bifes foram moídos e homogeneizados por 5 minutos usando um misturador. Posteriormente, aproximadamente 180g da amostra foi distribuída de maneira uniforme na placa de leitura do FoodScan (ANDERSON, 2007). Foram realizadas três leituras por amostra. As amostras foram novamente homogeneizadas e colocadas na placa para a próxima leitura, obtendo-se os valores médios dos níveis de umidade, proteína e gordura. A matéria mineral das amostras foi determinada segundo AOAC (2005).

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados utilizando o procedimento *Proc Mixed* do software estatístico SAS (versão 9.4; SAS Inst. Inc., Cary, NC), como um delineamento inteiramente casualizados com 3 tratamentos e 8 repetições (animal), sendo o animal considerado como unidade experimental no modelo. Antes das análises, todos os dados foram testados quanto à normalidade, avaliando o perfil de seus resíduos usando o *Proc Univariate*. Foram considerados normais os dados que apresentaram valores de Shapiro-Wilk $\geq 0,05$. O modelo estatístico incluiu o tratamento como efeito fixo e o animal foi incluído como efeito aleatório. O PV inicial e a coleta de sangue inicial relativa ao início do experimento foram utilizados como covariável quando significativo. A validação do modelo a cada variável e para atender aos requisitos de normalidade e homocedasticidade foi realizada a análise de resíduos. Quando o efeito do tratamento foi significativo ($P \leq 0,05$) ou tendeu ($P > 0,05$ e $\leq 0,10$) a afetar as variáveis respostas, Tukey-Kramer foi usado para determinar diferenças significativas entre as médias.

5 RESULTADOS

5.1 Desempenho produtivo, características de carcaça e qualidade de carne

Os resultados de desempenho produtivo podem ser observados na Tabela 2. Durante os primeiros 28 dias do período de alimentação, os animais alimentados com dietas contendo BEO+AM e BEO+AM+HyD tiveram maior IMS ($P < ,0001$) e IMS%PV ($P < 0,001$), no entanto não houve diferença para GPD ($P = 0,16$), peso vivo d28 ($P = 0,17$), EA ($P = 0,79$) e CA ($P = 0,79$).

A alimentação com BEO+AM e BEO+AM+HyD aumentou a IMS ($P < ,0001$) e tendeu a aumentar o GPD ($P = 0,07$) e PVF ($P = 0,08$) em comparação com MON, apesar de não haver diferenças na CA ($P = 0,63$) e EA ($P = 0,50$), durante o período total de alimentação.

Os tratamentos não afetaram os valores de EL observados ($P \geq 0,17$) ou as razões entre EL observadas:esperadas ($P \geq 0,17$) (Tabela 3).

Em relação as características de carcaça, os animais alimentados com BEO+AM e BEO+AM+HyD apresentaram maior GPD de carcaça, ganho de carcaça e PCQ ($P = 0,01$) em relação a MON (Tabela 4). Além disso, a alimentação BEO+AM+HyD aumentou o rendimento de carcaça em 2,1% ($P = 0,03$) e tendeu a aumentar o rendimento do ganho em carcaça ($P = 0,07$) em comparação com MON. A eficiência de carcaça ($P = 0,61$) e a eficiência biológica ($P = 0,50$) foram semelhantes entre os tratamentos. Da mesma forma, não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) entre os aditivos para as variáveis obtidas por meio de ultrassom de carcaça (Tabela 5). Além disso, a alimentação com BEO+AM e BEO+AM+HyD aumentou a área média das fibras musculares (Figura 5), em comparação com os animais alimentados somente com MON.

Os resultados de qualidade e composição química da carne podem ser observados na Tabela 6 e 7, respectivamente. Não foram encontradas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos para a maioria das variáveis de qualidade de carne, exceto para a L*, onde os animais alimentados com MON tenderam ($P = 0,10$) a apresentar maior valor em relação aos animais alimentados com BEO+AM+HyD, enquanto o tratamento BEO+AM foi intermediário e não diferente dos demais.

5.2 Comportamento ingestivo

Os resultados de comportamento ingestivo estão descritos na Tabela 8. Os animais alimentados com BEO+AM e BEO+AM+HyD, apresentaram maior IMS ($P = <,0001$), ingestão de FDN ($P = <,0001$) e número de visitas ao cocho com consumo ($P = 0,003$) em comparação com o tratamento MON. A alimentação com MON e BEO+AM+HyD resultou em maior tempo efetivo de consumo ($P = 0,003$) e levou a diminuição das EALMS ($<,0001$) e EALFDN ($<,0001$), em relação ao tratamento BEO+AM. Por outro lado, o tempo de alimentação por refeição foi maior ($P = 0,004$) para o tratamento MON em comparação aos animais alimentados com BEO+AM, sendo o tratamento BEO+AM+HyD intermediário e não diferente dos demais. Para a variável IMS por refeição não foi observada diferença entre os tratamentos ($P = 0,71$).

Tabela 2 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações no desempenho produtivo de bovinos F1 Angus-Nelore confinados

Item	Tratamentos ¹			EPM ²	Valor de P
	MON	BEO+AM	BEO+AM+HyD		
Peso vivo inicial ³ , kg	453,72	453,14	462,37	6,37	0,30
Peso vivo d28 ³ , kg	498,89	506,84	512,32	4,50	0,17
Peso vivo final ⁴ , kg	628,04 ^b	654,04 ^a	651,50 ^a	8,44	0,08
GPD ⁵ d28 kg	1,53	1,81	1,99	0,16	0,16
GPD ⁶ , kg	1,68 ^b	1,94 ^a	1,92 ^a	0,08	0,07
IMS ⁷ d28 kg	10,47 ^b	12,60 ^a	12,54 ^a	0,25	<,0001
IMS ⁸ , kg	10,77 ^b	13,18 ^a	12,82 ^a	0,27	<,0001
IMS %PV ⁹ d28	2,19 ^b	2,62 ^a	2,59 ^a	0,05	<,0001
IMS %PV ¹⁰	1,99 ^b	2,38 ^a	2,31 ^a	0,04	0,003
CA d28 kg/kg	7,33	7,38	6,72	0,74	0,79
CA, kg/kg	6,52	6,83	6,76	0,23	0,63
EA d28 kg/kg	0,147	0,145	0,157	0,001	0,79
EA, kg/kg	0,156	0,147	0,150	0,005	0,50

^{abc}As médias que não possuem letras sobrescritas comuns são diferentes ($P \leq 0,05$). ¹MON = monensina sódica (26 mg/kg MS); BEO+AM = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena (90 e 560 mg/kg MS, respectivamente); BEO+AM+HyD = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena + 25-hidroxivitamina D₃ (90 e 560 mg/kg de MS e 1 mg/animal/dia, respectivamente); A monensina de sódica (Rumensin) era da Elanco Animal Health, Indianapolis, IN. A mistura de óleos essenciais (CRINA Ruminantes), as enzimas exógenas (α -amilase [Ronozyme RumiStar] e a 25-hidroxicolecalciferol (Rovimix Hy-D 1,25%) foram fornecidas pela DSM Produtos Nutricionais, Basel, Suíça. ²EPM = Erro Padrão médio. ^{3,4}PV = descontado 4% do PV completo como preenchimento ruminal. ^{5,6}GPD = Ganho de Peso Diário. ^{7,8}IMS = Ingestão de matéria seca. ^{9,10}IMS %PV = Ingestão de matéria seca em % do peso vivo.

Tabela 3 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações na concentração de energia líquida observada da dieta de bovinos F1 Angus-Nelore confinados

Item	Tratamentos ¹			EPM ²	Valor de P
	MON	BEO+AM	BEO+AM+HyD		
EL observadas ³ , Mcal/kg					
ELm	2,27	2,12	2,18	0,06	0,17
ELg	1,58	1,45	1,50	0,05	0,17
EL observadas:esperadas ⁴					
ELm	1,18	1,10	1,13	0,03	0,18
ELg	1,23	1,13	1,17	0,04	0,17

^{abc}As médias que não possuem letras sobrescritas comuns são diferentes ($P \leq 0,05$). ¹MON = monensina sódica (26 mg/kg MS); BEO+AM = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena (90 e 560 mg/kg MS, respectivamente); BEO+AM+HyD = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena + 25-hidroxivitamina D₃ (25-(OH)D₃) (90 e 560 mg/kg de MS e 1 mg/animal/dia, respectivamente); A monensina de sódica (Rumensin) era da Elanco Animal Health, Indianapolis, IN. A mistura de óleos essenciais (CRINA Ruminantes), as enzimas exógenas (α -amilase [Ronozyme RumiStar] e a 25-(OH)D₃ (Rovimix Hy-D 1,25%)) foram fornecidas pela DSM Produtos Nutricionais, Basel, Suíça. ²EPM = Erro Padrão médio. ³Calculado de acordo com Zinn e Shen (1998). ⁴Os valores esperados foram calculados usando o modelo empírico NASCEM (2016), com base nos valores de nutrientes digestíveis totais (Weiss et al., 1992).

Tabela 4 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações nas características de carcaça de bovinos F1 Angus-Nelore confinados

Item	Tratamentos ¹			EPM ²	Valor de P
	MON	BEO+AM	BEO+AM+HyD		
PCQ ³ inicial, kg	226,86	226,57	231,19	3,19	0,30
PCQ ⁴ final, kg	344,13 ^b	368,53 ^a	371,87 ^a	6,41	0,01
GPD ⁵ de carcaça, kg	1,14 ^b	1,38 ^a	1,41 ^a	0,06	0,01
Ganho de carcaça kg	116,00 ^b	140,40 ^a	143,43 ^a	6,37	0,01
Eficiência de carcaça, kg/kg	0,106	0,104	0,110	0,004	0,61
Rendimento de carcaça, %	55,30 ^b	56,67 ^{ab}	57,38 ^a	0,51	0,03
RGC ⁶ , %	67,65 ^b	70,84 ^{ab}	73,95 ^a	1,78	0,07
Ef. ⁷ Biológica, MS kg/@	145,51	145,08	137,37	5,76	0,55

^{abc}As médias que não possuem letras sobrescritas comuns são diferentes ($P \leq 0,05$). ¹MON = monensina sódica (26 mg/kg MS); BEO+AM = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena (90 e 560 mg/kg MS, respectivamente); BEO+AM+HyD = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena + 25-hidroxivitamina D₃ (25-(OH)D₃) (90 e 560 mg/kg de MS e 1 mg/animal/dia, respectivamente); A monensina de sódica (Rumensin) era da Elanco Animal Health, Indianapolis, IN. A mistura de óleos essenciais (CRINA Ruminantes), as enzimas exógenas (α -amilase [Ronozyme RumiStar] e a 25-(OH)D₃ (Rovimix Hy-D 1,25%)) foram fornecidas pela DSM Produtos Nutricionais, Basel, Suíça. ²EPM = Erro Padrão médio. ^{3,4}PCQ = Peso de carcaça quente. ⁵GPD = Ganho de Peso Diário. ⁶RGC = Rendimento do ganho em carcaça. ⁷Efi. = Eficiência.

Tabela 5 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações nas medidas de ultrassonografia de carcaça de bovinos F1 Angus-Nelore confinados

Item	Tratamentos ¹			EPM ²	Valor de P
	MON	BEO+AM	BEO+AM+HyD		
Área de olho de lombo, cm ²	74,29	77,83	81,14	2,76	0,43
EGS ³ , mm	6,11	6,83	6,40	0,60	0,69
EGP ⁴ , mm	7,87	8,81	8,19	0,84	0,72
Marmoreio	2,96	2,65	2,74	0,14	0,31

^{abc}As médias que não possuem letras sobrescritas comuns são diferentes ($P \leq 0,05$). ¹MON = monensina sódica (26 mg/kg MS); BEO+AM = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena (90 e 560 mg/kg MS, respectivamente); BEO+AM+HyD = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena + 25-hidroxivitamina D₃ (25-(OH)D₃) (90 e 560 mg/kg de MS e 1 mg/animal/dia, respectivamente); A monensina de sódica (Rumensin) era da Elanco Animal Health, Indianapolis, IN. A mistura de óleos essenciais (CRINA Ruminantes), as enzimas exógenas (α -amilase [Ronozyme RumiStar] e a 25-(OH)D₃ [Rovimix Hy-D 1,25%]) foram fornecidas pela DSM Produtos Nutricionais, Basel, Suíça. ²EPM = Erro Padrão médio. ³EGS = Espessura de Gordura Subcutânea. ⁴EGP = Espessura de Gordura da Picanha (P8).

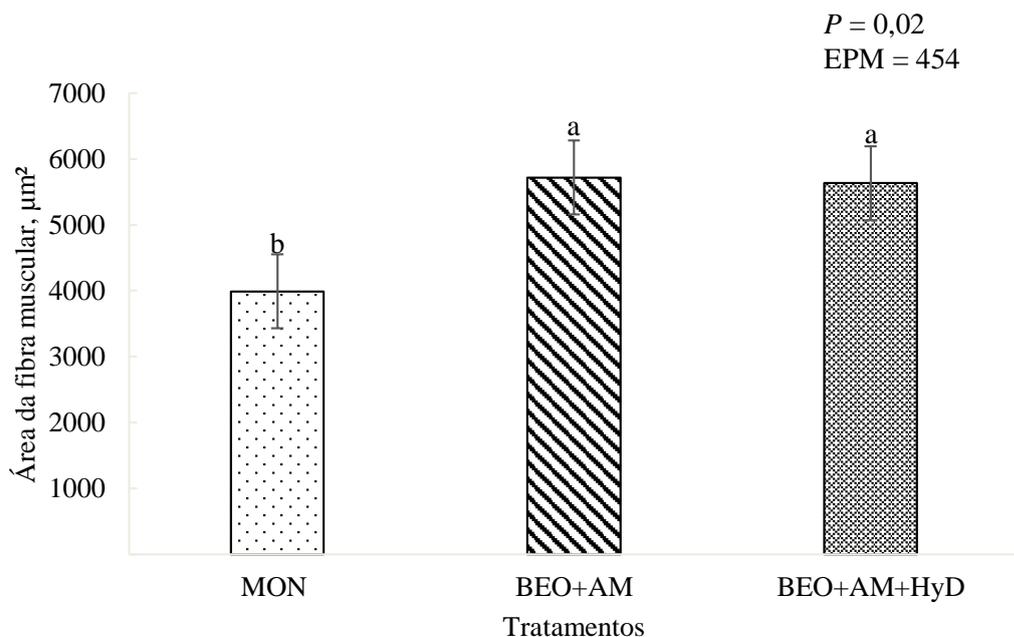


Figura 5 – Área transversal média das fibras do músculo *Logissimus Thoracis* de bovinos F1 Angus-Nelore confinados. ^{abc}As médias que não possuem letras sobrescritas comuns são diferentes ($P \leq 0,05$). ¹MON = monensina sódica (26 mg/kg MS); BEO+AM = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena (90 e 560 mg/kg MS, respectivamente); BEO+AM+HyD = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena + 25-hidroxivitamina D₃ (25-(OH)D₃) (90 e 560 mg/kg de MS e 1 mg/animal/dia, respectivamente); A monensina de sódica (Rumensin) era da Elanco Animal Health, Indianapolis, IN. A mistura de óleos essenciais (CRINA Ruminantes), as enzimas exógenas (α -amilase [Ronozyme RumiStar] e a 25-(OH)D₃ [Rovimix Hy-D 1,25%]) foram fornecidas pela DSM Produtos Nutricionais, Basel, Suíça.

Tabela 6 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações na qualidade de carne de bovinos F1 Angus-Nelore confinados

Item	Tratamentos ¹			EPM ²	Valor de <i>P</i>
	MON	BEO+AM	BEO+AM+HyD		
pH	5,39	5,33	5,50	0,07	0,26
Força de cisalhamento, kg	6,13	5,78	6,05	0,33	0,74
Perdas por cocção, %	27,56	27,87	28,87	0,86	0,55
L* ³	29,75 ^a	28,49 ^{ab}	27,24 ^b	0,76	0,10
a* ⁴	18,90	17,78	17,85	0,80	0,55
b* ⁵	7,55	7,11	7,13	0,36	0,63
Hue ⁶	21,84	21,80	21,62	0,47	0,94
Chroma ⁷	20,35	19,15	19,22	0,86	0,55

^{abc}As médias que não possuem letras sobrescritas comuns são diferentes ($P \leq 0,05$). ¹MON = monensina sódica (26 mg/kg MS); BEO+AM = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena (90 e 560 mg/kg MS, respectivamente); BEO+AM+HyD = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena + 25-hidroxivitamina D₃ (25-(OH)D₃) (90 e 560 mg/kg de MS e 1 mg/animal/dia, respectivamente); A monensina de sódica (Rumensin) era da Elanco Animal Health, Indianapolis, IN. A mistura de óleos essenciais (CRINA Ruminantes), as enzimas exógenas (α -amilase [Ronozyme RumiStar] e a 25-(OH)D₃ (Rovimix Hy-D 1,25%)) foram fornecidas pela DSM Produtos Nutricionais, Basel, Suíça. ²EPM = Erro Padrão médio. ³L* = é uma medida de luminosidade (valor mais alto indica uma cor mais clara). ⁴a* = é uma medida de vermelhidão onde um valor mais alto indica uma cor mais vermelha. ⁵b* = é uma medida de amarelecimento onde um valor mais alto indica uma cor mais amarela. ⁶Hue = significa ângulo de matiz/tan⁻¹ (b*/a*), onde valores maiores indicam uma mudança maior em relação ao eixo da cor vermelha verdadeira. ⁷Chroma = $\sqrt{(a^*^2 + b^*^2)}$ (valor maior indica uma cor mais viva).

Tabela 7 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações na composição química da carne de bovinos F1 Angus-Nelore confinados

Item, %	Tratamentos			EPM ¹	Valor de <i>P</i>
	MON	BEO+AM	BEO+AM+HyD		
Umidade	74,37	73,91	74,44	0,21	0,16
Proteína	22,95	22,92	23,06	0,09	0,55
Extrato Etéreo	2,45	2,80	2,37	0,19	0,25
Resíduo Mineral Fixo	1,11	1,09	1,06	0,02	0,18

^{abc}As médias que não possuem letras sobrescritas comuns são diferentes ($P \leq 0,05$). ¹MON = monensina sódica (26 mg/kg MS); BEO+AM = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena (90 e 560 mg/kg MS, respectivamente); BEO+AM+HyD = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena + 25-hidroxivitamina D₃ (25-(OH)D₃) (90 e 560 mg/kg de MS e 1 mg/animal/dia, respectivamente); A monensina de sódica (Rumensin) era da Elanco Animal Health, Indianapolis, IN. A mistura de óleos essenciais (CRINA Ruminantes), as enzimas exógenas (α -amilase [Ronozyme RumiStar] e a 25-(OH)D₃ (Rovimix Hy-D 1,25%)) foram fornecidas pela DSM Produtos Nutricionais, Basel, Suíça. ²EPM = Erro Padrão médio.

Tabela 8 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações no comportamento ingestivo de bovinos F1 Angus-Nelore confinados

Item	Tratamentos ¹			EPM ²	Valor de <i>P</i>
	MON	BEO+AM	BEO+AM+HyD		
Ingestão de MS ³ , kg	10,77 ^b	13,18 ^a	12,82 ^a	0,27	<,0001
Ingestão de FDN ⁴ , kg	2,22 ^b	2,71 ^a	2,64 ^a	0,05	<,0001
VCC ⁵ , n°/dia	25,99 ^b	41,42 ^a	37,45 ^a	3,11	0,003
TEC ⁶ , min/dia	76,78 ^a	64,05 ^b	82,91 ^a	3,51	0,003
IMSREF ⁷ , kg	0,46	0,43	0,41	0,04	0,71
EALMS ⁸ , min/kg	7,24 ^a	4,89 ^b	6,46 ^a	0,37	<,0001
EALFDN ⁹ , min/kg	35,57 ^a	23,69 ^b	32,24 ^a	1,34	<,0001
TALREF ¹⁰ , min/dia	3,33 ^a	1,91 ^b	2,53 ^{ab}	0,27	0,004

^{abc}As médias que não possuem letras sobrescritas comuns são diferentes ($P \leq 0,05$). ¹MON = monensina sódica (26 mg/kg MS); BEO+AM = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena (90 e 560 mg/kg MS, respectivamente); BEO+AM+HyD = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena + 25-hidroxivitamina D₃ (25-(OH)D₃) (90 e 560 mg/kg de MS e 1 mg/animal/dia, respectivamente); A monensina de sódica (Rumensin) era da Elanco Animal Health, Indianapolis, IN. A mistura de óleos essenciais (CRINA Ruminantes), as enzimas exógenas (α -amilase [Ronozyme RumiStar] e a 25-(OH)D₃ (Rovimix Hy-D 1,25%) foram fornecidas pela DSM Produtos Nutricionais, Basel, Suíça. ²EPM = Erro Padrão médio. ³MS = Matéria seca. ⁴FDN = Fibra em detergente neutro. ⁵VCC = Visitas ao cocho com consumo. ⁶TEC = Tempo efetivo de consumo. ⁷IMSREF = Ingestão de matéria seca por refeição. ⁸EALMS = Eficiência de alimentação da MS. ⁹EALFDN = Eficiência de alimentação da FDN. ¹⁰TALREF = Tempo de alimentação por refeição.

5.3 Características do pH ruminal

Durante o período de adaptação (ou seja, primeiros 14 dias), os animais alimentados com BEO+AM e BEO+AM+HyD apresentaram pH médio ($P = 0,001$) e pH mínimo maior ($P = <,0001$) do que os animais alimentados com MON (Tabela 9). Observou-se ainda uma tendência para o pH máximo, onde animais alimentados com BEO+AM apresentaram valor maior que MON, sendo o tratamento BEO+AM+HyD intermediário e não diferente ($P = 0,09$).

O tratamento MON tendeu a apresentar maior área de pH abaixo da curva de 6,2 ($P = 0,05$), diferindo de BEO+AM, enquanto o tratamento BEO+AM+HyD foi intermediário e não diferente dos demais. No entanto, os tratamentos não afetaram área de pH abaixo da curva de 5,8 ($P = 0,55$) e 6,0 ($P = 0,28$). Além disso, o pH ruminal dos animais alimentados com BEO+AM passou menos tempo abaixo de 6,0 do que os animais alimentados com MON ($P=0,04$), enquanto tratamento BEO+AM+HyD foi intermediário e não diferente. O tempo com pH ruminal abaixo de 6,2 foi menor para os animais alimentados com BEO+AM e BEO+AM+HyD em comparação com a MON ($P = 0,0002$). Em contrapartida, os tratamentos não afetaram o tempo de duração do pH abaixo de 5,8 ($P = 0,26$). Em relação a temperatura ruminal, o tratamento MON apresentou maior temperatura ruminal que os tratamentos BEO+AM e BEO+AM+HyD ($P = 0,05$).

Tabela 9 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações no pH ruminal de bovinos F1 Angus-Nelore confinados durante o período de adaptação

Item	Tartamentos ¹			EPM ²	Valor de <i>P</i>
	MON	BEO+AM	BEO+AM+HyD		
pH ruminal					
Médio	6,16 ^b	6,40 ^a	6,36 ^a	0,05	0,001
Mínimo	5,57 ^b	5,89 ^a	5,87 ^a	0,05	<,0001
Máximo	6,68 ^b	6,82 ^a	6,76 ^{ab}	0,06	0,09
Área abaixo da curva, pH x min					
5,8	41,64	33,06	29,08	7,92	0,55
6,0	109,91	75,03	79,75	17,47	0,28
6,2	235,64 ^a	139,67 ^b	169,71 ^{ab}	28,88	0,05
Duração de pH abaixo de, min/d					
5,8	235,71	159,64	166,43	34,43	0,26
6,0	452,62 ^a	256,07 ^b	340,54 ^{ab}	51,75	0,04
6,2	788,33 ^a	400,89 ^b	552,50 ^b	63,42	0,0002
Temperatura °C	39,53 ^a	39,42 ^b	39,48 ^b	0,03	0,05

^{abc}As médias que não possuem letras sobrescritas comuns são diferentes ($P \leq 0,05$). ¹MON = monensina sódica (26 mg/kg MS); BEO+AM = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena (90 e 560 mg/kg MS, respectivamente); BEO+AM+HyD = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena + 25-hidroxivitamina D₃ (25-(OH)D₃) (90 e 560 mg/kg de MS e 1 mg/animal/dia, respectivamente); A monensina de sódica (Rumensin) era da Elanco Animal Health, Indianapolis, IN. A mistura de óleos essenciais (CRINA Ruminantes), as enzimas exógenas (α -amilase [Ronozyme RumiStar] e a 25-(OH)D₃ (Rovimix Hy-D 1,25%) foram fornecidas pela DSM Produtos Nutricionais, Basel, Suíça. ²EPM = Erro Padrão médio

Em relação ao período total de alimentação (Tabela 10), os animais alimentados com BEO+AM apresentaram pH médio, mínimo e máximo maior do que os animais alimentados com BEO+AM+HyD e MON, sendo o tratamento BEO+AM+HyD intermediário e diferente do tratamento MON ($P <,0001$). Além disso, a alimentação com BEO+AM e BEO+AM+HyD reduziu a área de pH abaixo de 6,0 ($P = 0,005$) e 6,2 ($P <,0001$) e diminuiu o tempo de duração de pH abaixo de 5,8 ($P = 0,02$), 6,0 ($P <,0001$) e 6,2 ($P <,0001$) em comparação com a MON, onde os animais alimentados com BEO+AM passaram menos tempo com pH abaixo de 6,2 em comparação com BEO+AM+HyD e MON. No que diz respeito a temperatura, a alimentação com MON aumentou ($P <,0001$) a temperatura ruminal em relação aos tratamentos BEO+AM e BEO+AM+HyD. No entanto, os tratamentos não afetaram a área de pH abaixo da curva de 5,8 ($P = 0,59$).

Tabela 10 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações no pH ruminal de bovinos F1 Angus-Nelore confinados durante o período total de alimentação

Item	Tratamentos ¹			EPM ²	Valor de <i>P</i>
	MON	BEO+AM	BEO+AM+HyD		
pH ruminal					
Médio	6,22 ^c	6,51 ^a	6,42 ^b	0,02	<,0001
Mínimo	5,60 ^c	5,92 ^a	5,85 ^b	0,02	<,0001
Máximo	6,78 ^c	7,08 ^a	6,91 ^b	0,02	<,0001
Área abaixo da curva, pH x min					
5,8	26,79	22,99	23,39	2,72	0,59
6,0	81,52 ^a	57,76 ^b	60,96 ^b	5,27	0,005
6,2	190,24 ^a	118,64 ^b	133,22 ^b	8,82	<,0001
Duração de pH abaixo de, min/d					
5,8	161,10 ^a	121,13 ^b	122,56 ^b	11,20	0,02
6,0	390,79 ^a	228,51 ^b	260,05 ^b	16,96	<,0001
6,2	687,01 ^a	379,69 ^c	455,28 ^b	22,21	<,0001
Temperatura °C	39,60 ^a	39,51 ^b	39,53 ^b	0,01	<,0001

^{abc}As médias que não possuem letras sobscritas comuns são diferentes ($P \leq 0,05$). ¹MON = monensina sódica (26 mg/kg MS); BEO+AM = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena (90 e 560 mg/kg MS, respectivamente); BEO+AM+HyD = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena + 25-hidroxivitamina D₃ (25-(OH)D₃) (90 e 560 mg/kg de MS e 1 mg/animal/dia, respectivamente); A monensina de sódica (Rumensin) era da Elanco Animal Health, Indianapolis, IN. A mistura de óleos essenciais (CRINA Ruminantes), as enzimas exógenas (α -amilase [Ronozyme RumiStar] e a 25-(OH)D₃ (Rovimix Hy-D 1,25%)) foram fornecidas pela DSM Produtos Nutricionais, Basel, Suíça. ²EPM = Erro Padrão médio

5.4 Morfometria Ruminal

Os diferentes tratamentos não influenciaram na área média de papilas, número médio de papilas e no índice de rumenites ($P > 0,05$) (Tabela 11). No entanto, os animais alimentados com BEO+AM e MON apresentaram maior área de superfície absorptiva ($P = 0,007$) e representatividade das papilas na superfície absorptiva ($P = 0,01$), quando comparado ao tratamento BEO+AM+HyD. Não foram encontrados abscessos hepáticos no fígado dos animais de todos os tratamentos.

Tabela 11 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações na morfometria ruminal de bovinos F1 Angus-Nelore confinados

Item	Tratamentos ¹			EPM ²	Valor de P
	MON	BEO+AM	BEO+AM+HyD		
<i>Morfologia das papilas</i>					
Área média de papilas, cm ²	0,51	0,50	0,43	0,04	0,46
Número médio de papilas, n	67,22	73,95	68,33	7,17	0,78
ASA ³ , cm ²	33,87 ^a	36,12 ^a	28,47 ^b	1,58	0,007
RPSA ⁴ , %	97,40 ^a	97,60 ^a	96,90 ^b	0,16	0,01
Índice de rumenite	0,86	0,75	1,00	0,23	0,74
Abscessos hepáticos	0	0	0	-	-

^{abc}As médias que não possuem letras sobscritas comuns são diferentes ($P \leq 0,05$). ¹MON = monensina sódica (26 mg/kg MS); BEO+AM = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena (90 e 560 mg/kg MS, respectivamente); BEO+AM+HyD = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena + 25-hidroxivitamina D₃ (25-(OH)D₃) (90 e 560 mg/kg de MS e 1 mg/animal/dia, respectivamente); A monensina de sódica (Rumensin) era da Elanco Animal Health, Indianapolis, IN. A mistura de óleos essenciais (CRINA Ruminantes), as enzimas exógenas (α -amilase [Ronozyme RumiStar] e a 25-(OH)D₃ (Rovimix Hy-D 1,25%) foram fornecidas pela DSM Produtos Nutricionais, Basel, Suíça. ²EPM = Erro Padrão médio. ³ASA = Área de superfície absorptiva. ⁴RPSA = Representatividade das papilas na superfície absorptiva.

5.5 Concentrações séricas e musculares de cálcio total, cálcio ionizado, fósforo e 25-(OH)D₃

As concentrações séricas e musculares de Ca total, Ca ionizado, 25-(OH)D₃ e fósforo podem ser observadas na Tabela 12. Não foram encontradas diferenças significativas nas concentrações de P séricas e nas concentrações de P e Ca musculares. No entanto, os animais alimentados com BEO+AM apresentaram maior concentrações séricas de Ca total e Ca ionizado em relação aos animais suplementados com BEO+AM+HyD, enquanto o tratamento MON foi intermediário e não diferente dos demais. Já as concentrações séricas de 25-(OH)D₃ foram maiores nos animais alimentados com BEO+AM+HyD comparado aos animais alimentados com MON e BEO+AM.

Tabela 12 - Efeito de aditivos alimentares e suas combinações nas concentrações séricas e musculares de cálcio, fósforo e 25-(OH)D₃ de bovinos F1 Angus-Nelore confinados

Item	Tratamentos ¹			EPM ²	Valor de P
	MON	BEO+AM	BEO+AM+HyD		
<i>Sérico</i>					
Cálcio total, µg/mL	74,19 ^{ab}	77,82 ^a	67,28 ^b	2,17	0,04
Fósforo, µg/mL	69,77	77,00	70,75	4,59	0,38
Cálcio ionizado, mg/dL	2,43 ^{ab}	4,38 ^a	2,28 ^b	0,68	0,08
25-(OH)D ₃ , ng/mL	16,28 ^b	32,50 ^b	67,40 ^a	7,11	0,002
<i>Muscular</i>					
Cálcio, mg/100 g	8,29	4,15	4,70	1,73	0,20
Fósforo, mg/100 g	7,63	4,49	5,28	1,57	0,34

^{abc}As médias que não possuem letras sobscritas comuns são diferentes ($P \leq 0,05$). ¹MON = monensina sódica (26 mg/kg MS); BEO+AM = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena (90 e 560 mg/kg MS, respectivamente); BEO+AM+HyD = mistura de óleos essenciais + α -amilase exógena + 25-hidroxivitamina D₃ (25-(OH)D₃) (90 e 560 mg/kg de MS e 1 mg/animal/dia, respectivamente); A monensina de sódica (Rumensin) era da Elanco Animal Health, Indianapolis, IN. A mistura de óleos essenciais (CRINA Ruminantes), as enzimas exógenas (α -amilase [Ronozyme RumiStar] e a 25-(OH)D₃ (Rovimix Hy-D 1,25%)) foram fornecidas pela DSM Produtos Nutricionais, Basel, Suíça. ²EPM = Erro Padrão médio.

6 DISCUSSÃO

A hipótese do presente estudo era de que a suplementação de BEO+AM melhoraria a saúde ruminal e conseqüentemente o desempenho dos animais. Além disso, a suplementação com 1 mg de 25-(OH)D₃ proporcionaria ganhos adicionais para a produção de carcaça e aumentaria as concentrações de Ca no sangue e no músculo, resultando portanto, em carnes mais macias.

Em nosso estudo, nos primeiros 28 dias de alimentação os bovinos alimentados com BEO+AM e BEO+AM+HyD, consumiram 20,34% e 19,77% a mais respectivamente, que os animais alimentados com MON, embora não foram observadas diferenças de desempenho. Meschiatti et al. (2019), também observaram maior IMS nos primeiros 27 dias, onde os animais alimentados com BEO+AM consumiram 11,5% a mais que os animais alimentados com MON, mas o GPD foi 23% maior do que o tratamento MON, sem diferenças para a EA. Além disso, a alimentação com BEO+AM, tendeu a aumentar o PVF em 9 kg, quando comparado ao tratamento MON nos primeiros 27 dias de alimentação.

Por outro lado, ao considerarmos o período total de confinamento, os animais alimentados com BEO+AM e BEO+AM+HyD consumiram respectivamente 22,38% e 19,03% a mais que o tratamento MON, proporcionando desta forma 26 kg a mais de carcaça e uma tendência para aumento de desempenho, embora observou-se a mesma eficiência alimentar e biológica. Nas pesquisas realizadas por Meschiatti et al. (2019) e Gouvêa et al. (2019a), utilizando a mesma combinação de aditivos testados em nosso estudo (BEO+AM) na alimentação de machos inteiros da raça Nelore, também observaram maior IMS (9,3% e 7,4%, respectivamente) em relação ao tratamento MON. A maior IMS observada por Meschiatti et al. (2019) refletiu em 12 % a mais de GPD e 12 kg a mais de PCQ do que os animais alimentados com MON, sem diferenças para a EA. Gouvêa et al. (2019a), observaram 11 kg a mais de

PCQ para os animais alimentados com BEO+AM em relação ao tratamento MON. Toseti et al. (2020), não observaram maior IMS para machos inteiros da raça Nelore alimentados com a combinação BEO+AM, porém os animais apresentaram 120 g a mais de GPD, resultando em maior PVF e PCQ quando comparado aos animais alimentados com MON. Por outro lado, Meyer et al. (2009) não observaram aumento na IMS ou no desempenho e produção de carcaça de bovinos confinados alimentados com a mesma combinação de BEO quando comparado ao controle sem aditivo alimentar. Tricarico et al. (2007) relataram que a suplementação de α -amilase em dietas de bovinos de corte confinados aumentou a IMS e conseqüentemente o GPD e o PCQ. Entretanto, DiLorenzo et al. (2011), não observaram diferenças para desempenho e produção de carcaça para bovinos confinados suplementados com α -amilase. Embora a EA tenha sido semelhante entre os tratamentos, os animais que consumiram a combinação BEO+AM ou ainda BEO+AM+HyD consumiram mais e conseqüentemente terminaram mais pesados e produziram mais carcaça. Além disso, a maior IMS dos animais alimentados com esses dois últimos tratamentos foi acompanhado por uma tendência de aumento no GPD e por esse motivo não foram detectadas diferenças significativas na EA quando comparado com os animais alimentados com MON. Neste sentido, as concentrações de energia líquida observadas entre os tratamentos suportam essa suposição.

Sendo assim, a maior IMS em nosso estudo proporcionou maior ingestão de energia e nutrientes, especialmente de amido, pois os tratamentos BEO+AM e BEO+AM+HyD consumiram em média 1,22 kg a mais de amido em comparação com MON. Segundo Meschiatti et al. (2019), a alimentação de BEO+AM aumentou a digestibilidade do amido em 90,5% quando comparado ao tratamento MON (86,1%). Diante disso, a adição de AM pode ter aumentado o aproveitamento do amido da dieta, o que pode ter contribuído em maior desempenho e produção de carcaça dos animais neste estudo. A maior digestibilidade ruminal do amido promovida pela suplementação de AM (DiLorenzo et al., 2010), promove a liberação de maltodextrinas que podem ser utilizadas como substrato para o crescimento de bactérias amilolíticas e não amilolíticas em um mecanismo de alimentação cruzada (TRICARICO et al., 2008), aumentando a digestibilidade de todos os nutrientes da dieta (ZILIO et al., 2019).

Embora não observou-se diferença no rendimento de carcaça para o tratamento BEO+AM em comparação a ambos BEO+AM+HyD e MON, os animais alimentados somente com BEO+AM produziram 2,48% a mais que a MON, enquanto a inclusão de 25-(OH)D₃ proporcionou um ganho de 3,76% a mais que a MON, um ganho adicional de 1,28% ao incluir a 25-(OH)D₃. A maior produção de carcaça observada para os tratamentos BEO+AM e BEO+AM+HyD durante a fase de terminação foram devidas a hipertrofia muscular, uma vez que observamos aumento na área das fibras no músculo *Longissimus Thoracis*. Até onde sabemos, este é o primeiro estudo mostrando aumento na área média das fibras musculares de bovinos alimentados com BEO+AM ou ainda, com BEO+AM+HyD. Embora não observou-se um aumento adicional na área das fibras musculares com a suplementação de 25-(OH)D₃, segundo Hutton et al. (2014) a suplementação com 25-(OH)D₃ estimula a atividade das células satélites no músculo, indicando um aumento no rendimento muscular através da hipertrofia da fibra

muscular, resultando desta forma, em maior rendimento de carcaça, como observado no presente estudo. Na literatura Acedo et al (2018), não observaram diferenças de desempenho para bovinos Nelores confinados recebendo doses crescentes de 25-(OH)D₃. No entanto, os animais suplementados com 1 mg/animal/dia de 25-(OH)D₃ produziram 0,54 pontos percentuais a mais de rendimento de carcaça em relação aos animais não suplementados ou que receberam 3 mg/d de 25-(OH)D₃ na dieta. Carvalho e Perdigão (2019), relataram que bovinos confinados suplementados com 1 mg de 25-(OH)D₃ produziram 4,2 kg a mais de carcaça, enquanto Estrada-Ângulo et al. (2022) observaram maior PCQ (1,7%) e AOL (7,9%) em comparação aos animais alimentados com a combinação MON+VM. Já Gouvêa et al. (2019b) e Niehues et al. (2021), observaram maior PVF e GPD para bovinos em pastejo suplementados com 1 mg de 25-(OH)D₃. Embora as ações biológicas de 25-(OH)D₃ no desenvolvimento e crescimento do músculo bovino estejam sendo documentadas e reconhecidas (Martins et al., 2020), estudos anteriores suportam a hipótese de que a Vitamina D₃ tem ação direta no músculo, por meio da presença da enzima 1- α -hidroxilase e do receptor de vitamin D (VDR) nas células musculares (SRIKUEA et al., 2012; GIRGIS et al., 2014; VIGNALE et al., 2015). Pesquisas recentes demonstraram os mecanismos pelos quais a suplementação dietética de 25-(OH)D₃ pode afetar a hipertrofia do músculo esquelético e aumentar a síntese muscular de proteína (VIGNALE et al., 2015; MARTINS et al., 2020). Além disso, pesquisas observaram que a vitamina D é um potencial antioxidante capaz de bloquear o estresse oxidativo no músculo esquelético (Dzik e Kaczor et al., 2019), pode desempenhar um papel na regulação das vias de inflamação intramuscular (Pojednic e Cegliav et al., 2014) e melhorar a função imunológica (NELSON et al., 2012).

Além das funções supracitadas, a vitamina D também está envolvida no sistema homeostático de cálcio e fósforo (MONTGOMERY et al., 2004). No presente estudo, observamos aumento das concentrações sanguíneas de 25-(OH)D₃ mas não observamos aumento plasmático de Ca ionizado, Ca muscular e nem melhorias na maciez da carne com a suplementação de 25-(OH)D₃. Na literatura, as pesquisas disponíveis com a suplementação de 25-(OH)D₃ são focadas principalmente, no aumento da maciez da carne de bovinos de corte, mas os resultados ainda são inconscientes. Por exemplo, Wertz et al. (2004) e Foote et al. (2004), relataram que a suplementação com 25-(OH)D₃ elevou as concentrações sanguíneas de 25-(OH)D₃, mas não aumentou as concentrações de Ca total. Segundo Wertz et al. (2004), a suplementação de 25-(OH)D₃ não melhorou a força de cisalhamento, já Foote et al. (2004) observaram uma tendência de aumento na maciez de carnes maturadas por 21 dias ao suplementar bovinos com 25-(OH)D₃. Por outro lado, Carnagey et al. (2008), observaram aumento nas concentrações sanguíneas de 25-(OH)D₃ e também de Ca total, porém não observaram aumento na maciez da carne com a suplementação de 25-(OH)D₃. Segundo esses últimos autores, pode ser que o baixo número de unidades experimentais utilizado, tenha sido um limitante para conseguir respostas positivas no aumento do Ca plasmático ou na maciez da carne, o que pode ter ocorrido nesta pesquisa. Por outro lado, Lawrence et al. (2006) não encontraram efeito na coloração, perdas por cocção, força de cisalhamento e pH da carne ao suplementar bovinos com 125 mg de 25-(OH)D₃ por 6, 4 ou 2 dias antes do abate, mas a

suplementação com 25-(OH)D₃ mais próximo ao abate diminuiu a força de cisalhamento das carnes para um fenótipo específico. Sendo assim, parece que doses mais altas perto do abate (24-48 h) podem ser uma estratégia mais eficaz para elevar as concentrações de cálcio muscular a ponto de melhorar a maciez miobrilhar da carne. Assim como observado em nosso estudo, as concentrações plasmáticas (Karges et al., 2001) e musculares (Montgomery et al., 2002) de P não foram influenciadas pela suplementação de vitamina D₃.

No presente estudo, os diferentes aditivos não alteraram a maioria das características de qualidade carne, exceto para a variável L*, que tendeu a ser maior para os animais alimentados com MON. Toseti et al. (2020), também observaram diferença apenas para os valores de L* que foram maiores para os animais alimentados com MON quando comparado ao grupo BEO+AM. Segundo Abularach et al. (1998), em bovinos jovens as carnes são classificadas escuras quando L* é inferior 29,7 e claras quando L* é superior a 38,5. Dessa forma, as carnes do presente estudo estavam com menos brilho ou mais escura, ou seja, menos atraentes para o consumidor. Tricarico et al. (2007), relataram que a suplementação com α -amilase tendeu a aumentar a EGS à medida que aumentou a dose da enzima, mas não observaram diferenças para AOL e escore de marmoreio. Já para os óleos essenciais Rivaroli et al. (2016), observaram que a adição de um BEO (orégano, alho, limão, alecrim, tomilho, eucalipto e laranja doce) às dietas não afetou o pH da carcaça e composição química da carne, mas aumentou a vermelhidão (a*) e diminuiu a força de cisalhamento da carne. Monteschio et al. (2017), não observaram diferenças para pH da carcaça, EGS, escore de marmoreio e AOL, mas a adição de um BEO reduziu a degradação da cor (valores de L* e Chroma) e a força de cisalhamento. Da mesma forma, Ornaghi et al. (2020), não observaram diferenças na EGS, AOL, escore de marmoreio, L*, a* ou b* e perdas por cocção, mas a inclusão de BEO na dieta diminuiu o pH da carcaça e a força de cisalhamento da carne.

A maior IMS observada para os tratamentos BEO+AM e BEO+AM+HyD refletiu em maior consumo de FDN e foi apoiada pelo aumento de visitas totais ao cocho e não pelo maior consumo de matéria seca por refeição. O tempo efetivo de consumo dos animais alimentados com BEO+AM foi menor em comparação aos demais tratamentos devido principalmente a competição entre os animais para acesso ao cocho, pois o sistema Intergado permite a entrada de apenas um animal por vez, refletindo em menor tempo de consumo por refeição e maior eficiência de alimentação da MS e FDN, pois esses animais passaram menos tempo se alimentando e consumiram mais que os demais tratamentos. No entanto, era esperado que o tratamento BEO+AM+HyD apresentasse o mesmo comportamento, pois a IMS foi estatisticamente semelhante, mas isso não ocorreu provavelmente por algum efeito experimental não controlado. Além disso, já é bem consolidado que a MON na dieta de bovinos de corte confinados reduz a IMS (Goodrich et al. 1984; Duffield et al. 2012) e conseqüentemente o número de visitas ao cocho são menores, permitindo a esses animais passarem mais tempo consumindo. Os resultados de De Souza et al. (2018), não estão de acordo com o nosso estudo, pois os autores não observaram diferenças para o número de visitas ao cocho e eficiência de alimentação da MS e FDN de bovinos suplementados com BEO na dieta. Assim como Ornaghi et al. (2017), também não observaram efeitos da inclusão de

um BEO no comportamento ingestivo de bovinos mestiços confinados. No entanto, é importante observar que nas pesquisas de De Souza et al. (2018) e Ornaghi et al. (2017), os animais permaneceram alojados em baias individuais (1 animal/baia), sem competição, refletindo em um comportamento ingestivo totalmente diferente do observado em nosso estudo com o sistema Intergado.

O pH ruminal mais baixo ou moderadamente mais ácido, característico de dietas de confinamentos ricas em concentrado, pode potencializar a ação dos OE (CALSAMIGLIA et al., 2007), concordando com os resultados obtidos em nosso estudo, onde animais alimentados com BEO apresentaram melhor ambiente ruminal comparado aos animais alimentados com MON, em ambos os períodos avaliados (adaptação e terminação). Segundo Barker et al. (1995), ao aumentar a entrada de substrato no rúmen, observa-se um aumento na fermentação microbiana e consequentemente na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), tornando-se importante que a taxa de absorção desses ácidos seja alta, para não haver acúmulo excessivo de AGCC e não desencadeie quadros de acidose. Nosso estudo não indica piora da SARA com o aumento da IMS para os animais alimentados com a combinação BEO+AM ou BEO+AM+HyD.

Conforme Calsamiglia et al. (2007), a inclusão de uma combinação de OE na dieta pode melhorar o desempenho animal devido à atividade antimicrobiana dos compostos dos OE. De acordo com Li et al. (2013), este mesmo BEO melhorou o padrão de fermentação *in vitro*, aumentando a concentração de propionato. Meschiatti et al. (2019), também observaram maior produção de propionato para os animais alimentados com BEO e BEO+AM. Sendo o amido um dos principais precursores do propionato no rúmen, a maior ASA observada para a combinação BEO+AM pode estar relacionada a maior produção desse ácido graxo no rúmen desses animais, pois segundo Costa et al. (2008), o propionato é um dos principais AGCC responsável por promover o crescimento metabolicamente ativo das papilas ruminais, o que pode ter contribuído no aumento do desempenho e produção de carcaça neste estudo. De acordo com Melo et al. (2013), a ASA é a variável ruminal mais correlacionada com a velocidade de absorção dos AGCC, que por sua vez são responsáveis por melhorar o desempenho animal. Além disso, a maior IMS observada para o tratamento BEO+AM pode ter levado a maior fermentação e produção de AGCC no rúmen, mas o aumento da ASA pode ter auxiliado na remoção desses ácidos e contribuído na manutenção dos valores de pH mais altos e escores de rumenites semelhantes aos demais tratamentos. A maior ASA levou ao aumento da representatividade das papilas na área absorptiva. Esses resultados podem ser interessantes para controlar o pH ruminal de bovinos confinados alimentados com dietas ricas em concentrado, os quais estão mais susceptíveis a desenvolver quadros de acidose. A menor ASA observada para o tratamento BEO+AM+HyD quando comparado aos demais tratamentos, pode ser reflexo do aumento numérico do escore de rumenites, pois segundo Watanabe et al. (2021), a rumenite pode reduzir a ASA do rúmen, o que pode afetar negativamente a absorção dos AGCC. Esse fato pode ter levado a valores de pH ruminal mais baixos quando comparado ao tratamento BEO+AM, principalmente ao avaliarmos o período total de alimentação. No entanto, a menor ASA observada para

os animais alimentados com BEO+AM+HyD não foi capaz de afetar negativamente o desempenho dos animais, neste estudo.

O pH ruminal de 5,8 é considerado por alguns autores o limite para a acidose subclínica (SARA) (Beauchemin et al., 2001; Schwartzkopf-Genswein et al., 2003), pois esse limiar deprime a atividade de bactérias fibrolíticas no rúmen (RUSSELL e WILSON, 1996). A SARA é caracterizada pela duração do pH ruminal deprimido (PLAIZIER et al., 2008). Além disso, a área abaixo de 5,8 é considerada um indicador da gravidade da SARA, uma vez que considera tanto a duração, quanto a extensão da redução do pH ruminal (PENNER et al., 2007). Segundo Nagaraja et al. (1982), a MON pode diminuir a ocorrência de SARA em dietas ricas em concentrado. No entanto, no que diz respeito ao pH ruminal, o presente conjunto de dados não suporta um papel protetor da MON sobre a ocorrência de SARA, uma vez que os valores de pH ruminal mais baixos ocorreram, de fato, nos animais alimentados com MON. Durante a fase de adaptação os animais alimentados com MON apresentaram os menores valores de pH ruminal, sendo que a média de pH mínimo registrada nessa fase foi de 5,57 contra 5,83 (média) para os tratamentos BEO+AM e BEO+AM+HyD. Além disso, os animais alimentados com MON passaram mais tempo com pH abaixo de 6,0, apresentaram maior área e duração abaixo de 6,2 e maior temperatura. Isso provavelmente ocorreu porque os animais do tratamento MON não estavam com o epitélio ruminal bem adaptado para absorver a maior quantidade de AGCC produzidos a medida que os níveis de concentrado da dieta foram aumentando, havendo desta forma, acúmulo de AGCC no rúmen e conseqüentemente redução o pH ruminal. Portanto, sendo o período de adaptação uma fase crítica, ou seja, que pode ocasionar doenças metabólicas em animais confinados (Nagaraja e Lechtenberg, 2007), os resultados deste estudo sugerem que o ionóforo MON não teve efeito protetor do pH ruminal em comparação com BEO+AM ou BEO+AM+HyD.

Em relação ao período total de confinamento, os animais alimentados com MON apresentaram maior duração de pH abaixo de 5,8, maior área e duração abaixo de 6,0 e 6,2 e maior temperatura em relação aos demais tratamentos. Como supracitado, a gravidade da SARA é indicada pelo tempo em que o pH permanece abaixo de 5,8, indicando que os animais alimentados com MON estavam mais susceptíveis a quadros de SARA, levando desta forma a aumentos da temperatura ruminal, pois segundo Aalzahal et al. (2008), a SARA induz a elevação da temperatura ruminal. Sendo assim, para evitar o desenvolvimento de SARA, uma das formas de defesa do epitélio ruminal é aumentar a área absorptiva (PENNER et al., 2011), levando a maior absorção de AGCC e evitando assim quedas no pH ruminal. No presente estudo, os animais alimentados com MON apresentaram ASA semelhante ao tratamento BEO+AM, no entanto, como os animais alimentados com MON consumiram menos, pode ser que o consumo mais baixo de matéria seca e conseqüentemente de FDN tenha levado a menor ruminação e conseqüentemente menor secreção de saliva, não sendo capaz de tamponar a carga ácida gerada a partir da fermentação ruminal, tornando os animais mais susceptíveis a SARA. Em uma meta-análise realizada por Torres et al. (2021), reunindo dados de 10 estudos avaliando a substituição de MON por BEO, os autores não encontraram efeitos de aditivo para o pH ruminal. Assim como Meschiatti et al. (2019),

Gouvêa et al, (2019a) e Toseti et al, (2020), também não observaram alterações no pH ruminal com a suplementação BEO+AM em comparação com a MON. Por outro lado, Benchaar et al. (2006) relataram que a suplementação com o mesmo BEO aumentou (6,50 vs. 6,39) o pH ruminal das vacas independente da adição de MON.

7 CONCLUSÃO

A alimentação de bovinos confinados com uma combinação específica de BEO+AM ou ainda BEO+AM+HyD alterou o comportamento ingestivo, melhorou a saúde ruminal e aumentou a IMS proporcionando maior desempenho e produção de carcaça sem alterar a eficiência alimentar dos animais e a qualidade da carne. Portanto, esses dois aditivos alimentares específicos avaliados no presente estudo (BEO+AM) podem ser uma alternativa para substituir a MON em dietas de terminação em confinamento. Além disso, a suplementação de 1 mg de 25-(OH)D₃ tem o potencial para aumentar o rendimento de carcaça dos animais, mas não tem impacto na maciez da carne.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACEDO, T. S.; NUNES DE GOUVEA, V.; DE SOUZA FLORIANO MACHADO DE VASCONCELLOS, G.; ARRIGONI, M.; LUDOVICO MARTINS, C.; MILLEN, D.; DOMINGUES SARTOR, A. PSXVII-27 Effect of 25-hydroxy-vitamin-D₃ on feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 96(suppl_3), 447-448, 2018.
- ALZAHAL, O., KEBREAB, E., FRANCE, J., FROETSCHER, M., & MCBRIDE, B. W. (2008). Ruminal Temperature May Aid in the Detection of Subacute Ruminal Acidosis. *Journal of Dairy Science*, 91(1), 202–207. doi:10.3168/jds.2007-0535
- ANDREAZZI, A. S. R., M. N. PEREIRA, R. B. REIS, R. A. N. PEREIRA, N. N. MORAIS JUNIOR, T. S. ACEDO, R. G. HERMES, AND C. S. CORTINHAS. Effect of exogenous amylase on lactation performance of dairy cows fed a high starch diet. *J. Dairy Sci.* 101:7199–7207. doi:10.3168/ jds.2017-14331, 2018.
- AOAC. Official Methods of Analysis. 18th edn. Association of Official Analytical Chemists; Arlington, VA, USA: 2005.
- Association of Official Analytical Chemists – AOAC. Official methods of analyses. 13. ed. Washington, D.C. 1990. 1141p.
- BARKER, I. K.; VAN DREUMEL, A. A.; PALMER, N. The alimentary system. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. (Ed.). *Pathology of domestic animals*. 4. ed. San Diego: Academic, 1995. v. 2, p. 2-203.
- BEAUCHEMIN, K. A.; YANG, W. Z.; RODE, L. M. Effects of barley grain processing on the site and extent of digestion of beef feedlot finishing diets. *Journal of Animal Science*, 79(7), 1925-1936, 2001.
- BENCHAAR, C.; PETIT, H.V.; BERTHIAUME, R.; WHYTE, T.D.; CHOUINARD, P.Y. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89, 4352–4364, 2006.

- BIGHAM, M. L.; MCMANUS, W. R. Whole wheat grain feeding of lambs. Effects of roughage and wheat grain mixtures. *Australian Journal of Agricultural Research*, 26 (6):1053-1062, 1975.
- BRINK, D. R., LOWRY, S. R., STOCK, R. A., 1990. Severity of liver abscesses and efficiency of feed. *Journal of Animal Science*, 68(5):1201-1207.
- BUTAYE, P.; DEVRIESE, L. A.; HAESBROUCK, F. Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well known antibiotics on gram-positive bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* 16:175–188, 2003.
- CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; CARDOZO, P.W.; CASTILLEJOS, L.; FERRET, A. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 90, 2580–2595, 2007.
- CARNAGEY, K.M.; HUFF-LONERGAN, E.J.; LONERGAN, S.M.; TRENKLE, A; HORST, R.L.; BEITZ, D.C. Use of 25-hydroxyvitamin D₃ and dietary calcium to improve tenderness of beef from the round of beef cows. *Journal of Animal Science*, v. 86, p. 1637-1648, 2008
- CARVALHO, S.; RODRIGUES, M. T.; BRANCO, R. H.; RODRIGUES, C. A. F. Comportamento ingestivo de cabras Alpinas em lactação alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de fibra em detergente neutro proveniente da forragem. *Rev. Bras. Zootec.*, 35(2):562-568, 2006.
- CARVALHO, V. V.; PERDIGÃO, A. PSXIV-11 Supplementation of 25-hydroxy-vitamin-D₃ and increased vitamin E as a strategy to increase carcass weight of feedlot beef cattle. *Journal of Animal Science*, 97(Suppl 3), 440, 2019.
- CHIZZOTTI, M. L., MACHADO, F. S., VALENTE, E. E. L., PEREIRA, L. G. R., CAMPOS, M. M., TOMICH, T. R., ... RIBAS, M. N. (2015). Technical note: Validation of a system for monitoring individual feeding behavior and individual feed intake in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 98(5), 3438–3442. doi:10.3168/jds.2014-892510.31.
- COSTA, S. F., PEREIRA, M. N., L. MELO, Q., RESENDE JÚNIOR, J. C., CHAVES, M. L. Alterações morfológicas induzidas por butirato, propionato e lactato sobre a mucosa ruminal e a epiderme de bezerros – I Aspectos histológicos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 60(1):1-9, 2008.
- COSTA, C. F., BRICHI, A. L. C., MILLEN, D. D., GOULART, R. S., PEREIRA, I. C., ESTEVAM, D. D., ... & ARRIGONI, M. D. B. Feedlot performance, carcass characteristics and meat quality of Nellore bulls and steers fed Zilpaterol hydrochloride. *Livestock Science*, 227, 166-174, 2019.
- CROSSLAND, W. L., CAGLE, C. M., SAWYER, J. E., CALLAWAY, T. R., & TEDESCHI, L. O. Evaluation of active dried yeast in the diets of feedlot steers. II. Effects on rumen pH and liver health of feedlot steers. *Journal of animal science*, 97(3), 1347-1363, 2019.
- DANIEL, J. L. P., RESENDE JÚNIOR, J. C., CRUZ, F. J., 2006. Participação do ruminoretículo e omaso na superfície absorptiva total do proventrículo de bovinos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 43, 688—694.
- DE SOUZA, K. A.; DE OLIVEIRA MONTESCHIO, J.; MOTTIN, C.; RAMOS, T. R.; DE MORAES PINTO, L. A.; EIRAS, C. E.; ... DO PRADO, I. N. Effects of diet supplementation with clove and rosemary essential oils and protected oils (eugenol, thymol and vanillin) on animal performance, carcass characteristics, digestibility, and ingestive behavior activities for Nellore heifers finished in feedlot. *Livestock Science*. 220 (2019) 190–195, 2018.
- DILORENZO, N., AND M. L. GALYEAN. 2010. Applying technology with newer feed ingredients in feedlot diets: do the old paradigms apply? *J. Anim. Sci.* 88(13 Suppl.):E123–E132. doi:10.2527/jas.2009-2362

- DILORENZO, N., D. R. SMITH, M. J. QUINN, M. L. MAY, C. H. PONCE, W. STEINBERG, M. A. ENGSTROM, AND M. L. GALYEAN. Effects of grain processing and supplementation with exogenous amylase on nutrient digestibility in feedlot diets. *Livest. Sci.* 137:178–184, 2011.
- DINIUS, D.A.; SIMPSON, M.E.; MARSH, P.B. Effect of monensin fed with forage on digestion and the ruminal ecosystem of steers. *J. Anim. Sci.* 1976, 42, 229–234.
- DENNIS, S.M.; NAGARAJA, T.G.; BARTLEY, E.E. Effect of lasalocid or monensin on lactate production from in vitro rumen fermentation of various carbohydrates. *J. Dairy Sci.* 1981, 64, 2350–2356.
- DZIK, K. P.; & KACZOR, J. J. Mechanisms of vitamin D on skeletal muscle function: oxidative stress, energy metabolism and anabolic state. *European journal of applied physiology*, 119, 825–839, 2019.
- DUFFIELD, T.F.; MERRILL, J.K.; BAGG, R.N. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. *J. Anim. Sci.* 2012, 90, 4583–4592.
- ESTRADA-ANGULO, A., MENDOZA-CORTEZ, D. A., RAMOS-MÉNDEZ, J. L., ARTEAGA-WENCES, Y. J., URÍAS-ESTRADA, J. D., CASTRO-PÉREZ, B. I., ... & PLASCENCIA, A. Comparing Blend of Essential Oils Plus 25-Hydroxy-Vit-D3 Versus Monensin Plus Virginiamycin Combination in Finishing Feedlot Cattle: Growth Performance, Dietary Energetics, and Carcass Traits. *Animals*, 12(13), 1715, 2022.
- FERNANDES, A. R. M.; SAMPAIO, A. A. M.; HENRIQUE, W.; OLIVEIRA, E. A.; TULLIO, R. R.; PERECIN, D. Carcass and meat characteristic of cattle receiving diferentes diets in feedlot. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 60, p. 139-147, 2008.
- FOOTE, M.R.; HORST, R.L.; HUFF-LONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.H.; PARRISH, F.C. JR.; BEITZ, D.C. The use of vitamin D₃ and its metabolites to improve beef tenderness. *Journal of Animal Science*, v. 82, p. 242-249, 2004.
- FOX, D.G., TEDESCHI, L.O., TYLUTKI, T.P., et al. The Cornell Net Carbohydrate and Protein System model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. *Animal Feed Science and Technology*. 112:29-78. 2004.
- GENCOGLU, H., R. D. SHAVER, W. STEINBERG, J. ENSINK, L. F. FERRARETTO, S. J. BERTICS, J. C. LOPES, AND M. S. AKINS. Effect of feeding a reduced-starch diet with or without amylase addition on lactation performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:723–732. doi:10.3168/jds.2009-2673, 2010.
- GIRGIS, C. M., MOKBEL, N., CHA, K. M., HOUWELING, P. J., ABBOUD, M., FRASER, D. R., ... & GUNTON, J. E. The vitamin D receptor (VDR) is expressed in skeletal muscle of male mice and modulates 25-hydroxyvitamin D (25OHD) uptake in myofibers. *Endocrinology*, 155(9), 3227-3237, 2014.
- GOODRICH, R. D., J. E. GARRETT, D. R. GAST, M. A. KIRICK, D. A. LARSON, AND J. C. MEISKE. Influence of monensin on the performance of cattle. *J. Anim. Sci.* 58:1484–1498. doi:10.2527/jas1984.5861484x, 1984.
- GOUVÊA, V. N; MESCHIATTI, M. A. P.; MORAES, J. M. M.; BATALHA, C. D. A.; DÓREA, J. R. R.; ACEDO, T. S.; TAMASSIA, L. F. M.; OWENS, F. N.; SANTOS, F. A. P. Effects of alternative feed additives and flint maize grain particle size on growth performance, carcass traits and nutrient digestibility of finishing beef cattle. *The Journal of Agricultural Science* 1–13, 2019a. <https://doi.org/10.1017/S0021859619000728>

- GOUVÊA, V. N.; VASCONCELLOS, G. S.; ACEDO, T. S.; TAMASSIA, L. F. 399 The 25-hydroxyvitamin D₃ supplementation improves animal performance of Nellore cattle grazed in tropical grass. *Journal of Animal Science*, 97(Supplement_3), 161–161. doi:10.1093/jas/skz258.331, 2019b.
- HUFF-LONERGAN, E., T. MITSUHASHI, D. D. BEEKMAN, F. C. PARRISH, JR., D. G. OLSON, AND R. M. ROBSON. 1996. Proteolysis of specific muscle structural proteins by μ -calpain at low pH and temperature is similar to degradation in postmortem bovine muscle. *J. Anim. Sci.* 74:993–1008.
- HUTTON, K.C.; VAUGHN, M. A.; LITTA, G.; TURNER, B. J.; STARKEY, J. D. Effect of vitamin D status improvement with 25-hydroxycholecalciferol on skeletal muscle growth characteristics and satellite cell activity in broiler chickens. *J. Anim. Sci.* 92:3291–9, 2014.
- KARGES, K., J.C. BROOKS, D.R. GILL, J.E. BREAZILE, F.N. OWENS, AND J.B. MORGAN. 2001. Effects of supplemental vitamin D₃ on feed intake, carcass characteristics, tenderness, and muscle properties of beef steers. *J. Anim. Sci.* 79:2844-2850, 2001.
- KARGES, K., OWENS, F. N., GILL, D. R., & MORGAN, J. B. Effects of supplemental vitamin D levels on feed intake and blood minerals of yearling steers. *Animal Science Research Report*, 134-142, 1999.
- LAWRENCE, R. W., DOYLE, J., ELLIOTT, R., LOXTON, I., MCMENIMAN, J. P., NORTON, B. W., ... & TUME, R. W. (2006). The efficacy of a vitamin D₃ metabolite for improving the myofibrillar tenderness of meat from *Bos indicus* cattle. *Meat Science*, 72(1), 69-78.
- LOFGREEN, G. P.; GARRET, W. N. Garret. A system for expressing net energy requirements and feed values for growing and finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.*, v.27, p.793-806, 1968.
- LI, Y. L., C. LI, K. A. BEAUCHEMIN, AND W. Z. YANG. Effects of a commercial blend of essential oils and monensin in a high-grain diet containing wheat distillers' grains on in vitro fermentation. *Can. J. Anim. Sci.* 93:387–398, 2013. doi:10.4141/cjas2013-028
- MARTINS, T. E.; ACEDO, T. S.; GOUVEA, V. N.; VASCONCELLOS, G. S.; ARRIGONI, M. B.; MARTINS, C. L.; ... & SARTOR, A. B. PSVII-6 Effects of 25-hydroxycholecalciferol supplementation on gene expression of feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 98(Supplement_4), 302-303, 2020.
- MACDOUGALL, D. B. Changes in the colour and opacity of meat. *Food Chemistry*, 9(1-2), 75–88, 1982. doi:10.1016/0308-8146(82)90070-x.
- MARESCA, S., VALIENTE, S. L., RODRIGUEZ, A. M., TESTA, L. M., LONG, N. M., QUINTANS, G. I., & PAVAN, E. The influence of protein restriction during mid-to late gestation on beef offspring growth, carcass characteristic and meat quality. *Meat science*, 153, 103-108, 2019.
- MELO, L. Q.; COSTA, S. F.; LOPES, F.; GUERREIRO, M. C.; ARMENTANO, L. E.; PEREIRA, M. N. 2013. Rumen morphometrics and the effect of digesta pH and volume on volatile fatty acid absorption. *Journal of Animal Science* 91, 1775–1783.
- MESCHIATTI, M. A.; GOUVÊA, V. N.; PELLARIN, L. A.; BATALHA, C. D.; BIEHL, M. V.; ACEDO, T. S.; SANTOS, F. A. Feeding the combination of essential oils and exogenous α -amylase increases performance and carcass production of finishing beef cattle. *Journal of Animal Science*. v97, p. 456-471, 2019.
- MEYER, N. F.; ERICKSON, G. E.; KLOPFENSTEIN, T. J.; GREENQUIST, M. A.; LUEBBE, M. K. Effect of essential oils, tylosin, and monensin on finishing steer performance, carcass characteristics, liver abscesses, ruminal fermentation, and digestibility. *J. Anim. Sci.* 87, 2346–2354, 2009.

- MONTESCHIO, J. O.; DE SOUZA, K. A.; VITAL, A. C. P.; GUERRERO, A.; VALERO, M.V.; KEMPINSKI, E. M. B. C.; BARCELOS, V. C.; NASCIMENTO, K.F.; DO PRADO, I. N. Clove and rosemary essential oils and encapsuled active principles (eugenol, thymol and vanillin blend) on meat quality of feedlot-finished heifers. *Meat Sci.*, 130 (2017), pp. 50-57, 10.1016/j.meatsci.2017.04.002.
- MONTGOMERY, J. L., CARR, M. A., KERTH, C. R., HILTON, G. G., PRICE, B. P., GALYEAN, M. L., ... & MILLER, M. F. Effect of vitamin D3 supplementation level on the postmortem tenderization of beef from steers. *Journal of Animal Science*, 80(4), 971-981, 2002.
- MONTGOMERY, J. L., BLANTON JR, J. R., HORST, R. L., GALYEAN, M. L., MORROW JR, K. J., WESTER, D. B., & MILLER, M. F. Effects of biological type of beef steers on vitamin D, calcium, and phosphorus status. *Journal of animal science*, 82(7), 2043-2049, 2004.
- MORAES PM, LOUREIRO VR, PADILHA PM, NEVES RCF, SALEH MAD, SANTOS FA. Determinação de fósforo biodisponível em rações de peixes utilizando extração assistida por ultra-som e espectrofotometria no visível. *Quim Nova*.2009;32(4):923–7.
- NAGARAJA, T. G.; AVERY, T. B.; BARTLEY, E. E.; ROOF, S. K.; DAYTON, A. D. Effect of lasalocid, monensin or thiopeptin on lactic acidosis in cattle. *J. Anim. Sci.* 54:649, 1982.
- NAGARAJA, T. G., AND K. F. LECHTENBERG. Acidosis in feedlot cattle. *Vet. Clin. Food Animal*. v.23, p.333-350. 2007.
- NELSON, C. D., T. A. REINHARDT, J. D. LIPPOLIS, R. E. SACCO, AND B. J. NONNECKE. 2012. Vitamin D signaling in the bovine immune system: A model for understanding human vitamin D requirements. *Nutrients* 4:181–196, 2012, doi:10.3390/nu4030181.
- NEVES, R. C. F.; MORAES, P. M.; SALEH, M. A. D.; LOUREIRO, V. R.; SILVA; BARROS, M. M.; PADILHA, C. C. F.; ALVES JORGE, S.M.; PADILHA P. M. FAAS determination of metal nutrients in fish feed after ultrasound extraction. *Food Chemistry*, v. 113, p. 679-683, 2009.
- NIEHUES, M.; PERDIGAO, A.; VASCONCELLOS, G. S.; CORREA, H. L.; GOUVEA, D.; DE CARVALHO, V. V.; ACEDO, T. S. 25-hydroxy-vitamin-D₃ improves productive performance of grazing Nellore cattle during dry season. In *Journal of animal science* (Vol. 99, pp. 482-482). Journals dept, 2001 evans rd, cary, nc 27513 usa: oxford univ press inc, 2021.
- NRC (National Research Council). *Nutrient requirements of beef cattle*. 6th ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1984.
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, NASCEM. 2016. *Nutrient requirements of beef cattle*. 8th Rev. ed. Washington, DC: The National Academies Press. doi.org/10.17226/19014
- OLIVEIRA, C. A.; MILLEN, D. D. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. *Animal Feed Science and Technology* 197:64-75, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.08.010>.
- ORNAGHI, M. G.; PASSETTI, R. A. C.; TORRECILHAS, J. A.; MOTTIN, C.; VITAL, A. C. P.; GUERRERO, A.; ... PRADO, I. N. Essential oils in the diet of young bulls: Effect on animal performance, digestibility, temperament, feeding behaviour and carcass characteristics. *Animal Feed Science and Technology*, 234, 274–283, 2017.
- ORNAGHI, M. G., GUERRERO, A., VITAL, A. C. P., DE SOUZA, K. A., PASSETTI, R. A. C., MOTTIN, C., ... DO PRADO, I. N. (2020). Improvements in the quality of meat from beef cattle fed natural additives. *Meat Science*, 108059. doi:10.1016/j.meatsci.2020.108059.

- PINTO, A. C. J.; MILLEN, D. D. Nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists: the 2016 Brazilian survey. *Canadian Journal of Animal Science*, v. 1, p. CJAS-2018-0031, 2018.
- POJEDNIC, R. M., & CEGLIA, L. The emerging biomolecular role of vitamin D in skeletal muscle. *Exercise and sport sciences reviews*, 42(2), 76, 2014.
- PENNER, G. B., K. A. BEAUCHEMIN, AND T. MUTSVANGWA. Severity of ruminal acidosis in primiparous Holstein cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 90:365–375, 2007. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)72638-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)72638-3).
- PENNER, G.B.; STEELE, M.A.; ASCHENBACH, J.R.; MCBRIDE, B.W. Ruminant nutrition symposium: molecular adaptation of ruminal epithelia to highly fermentable diets. *J. Anim. Sci.* 89, 1108–1119, 2011. <http://dx.doi.org/10.2527/jas.2010-3378>.
- PLAIZIER, J. C.; D. O. KRAUSE; G. N. GOZHO; AND B. W. MCBRIDE. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *Vet. J.* 176:21–31, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.016>.
- RESENDE JÚNIOR, J. C., ALONSO, L. S., PEREIRA, M. N., ROCA, M. G., DURC, M. M. V., OLIVEIRA, E. C., MELO, L. A. Effect of the feeding pattern on rumen wall morphology of cow and sheep. *BraS. j. vet. res. anim. sci*, 43(4):526-536, 2006.
- RIVAROLI, D. C.; GUERRERO, A.; VALERO, M.V.; ZAWADZKI, F.; EIRAS, C.E.; CAMPO, M.M.; SAÑUDO, C.; JORGE, A.M.; PRADO, I. N. Effect of essential oils on meat and fat qualities of crossbred young bulls finished in feedlots. *Meat Sci.*, 121 (2016), pp. 278-284, 10.1016/j.meatsci.2016.06.017
- RUSSELL, J. B., AND D. B. WILSON. 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? *J. Dairy Sci.* 79:1503–1509.
- SRIKUEA, R., ZHANG, X., PARK-SARGE, O. K., & ESSER, K. A. VDR and CYP27B1 are expressed in C2C12 cells and regenerating skeletal muscle: potential role in suppression of myoblast proliferation. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 303(4), C396-C405, 2012.
- SALEH, MAYRA A. D.; PADILHA, PEDRO M.; HAUPTLI, LUCÉLIA; BERTO, DIRLEI A. The ultra-sonication of minerals in swine feed. *Journal of animal science and biotechnology*, v. 6:32, p. 1-8, 2015.
- SALLES, J.; CHANET, A.; GIRAUDET, C.; PATRAC, V.; PIERRE, P.; JOURDAN, M.; LUIKING, Y.C.; VERLAAN, S.; MIGNÉ, C.; BOIRIE, Y.; WALRAND, S. 1,25(OH)₂-vitamin D₃ enhances the stimulating effect of leucine and insulin on protein synthesis rate through Akt/PKB and mTOR mediated pathways in murine C2C12 skeletal myotubes. *Molecular Nutrition & Food Research*, v. 57, p. 2137-2146, 2013.
- SAMUELSON, K. L., M. E. HUBBERT, M. L. GALYEAN, AND C. A. LOEST. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: the 2015 New Mexico State and Texas Tech University survey. *J. Anim. Sci.* 94:2648– 2663. doi:10.2527/jas.2016-0282, 2016.
- SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K. S.; BEAUCHEMIN, K. A.; GIBB, D. J.; CREWS JR, D. H.; HICKMAN, D. D.; STREETER, M.; MCALLISTER, T. A. Effect of bunk management on feeding behavior, ruminal acidosis and performance of feedlot cattle: A review. *Journal of Animal Science*, 81(14_suppl_2), E149-E158, 2003.

- SHACKELFORD, S. D., WHEELER, T. L., & KOOHMARAIE, M. Evaluation of slice shear force as an objective method of assessing beef *longissimus* tenderness. *Journal of animal science*, 77(10), 2693-2699, 1999.
- SILVESTRE, A. M.; MILLEN, D. The 2019 Brazilian survey on nutritional practices provided by feedlot cattle consulting nutritionists. *REVISTA BRASILEIRA DE ZOOTECNIA*, v. 50, p. e20200189, 2021.
- TORRES, R. N. S.; PASCHOALOTO, J. R.; EZEQUIEL, J. M. B.; DA SILVA, D. A. V.; ALMEIDA, M. T. C. Meta-analysis of the effects of essential oil as an alternative to monensin in diets for beef cattle. *The Veterinary Journal*, 272, 105659, 2021.
- TOSETI, L. B., GOULART, R. S., GOUVÊA, V. N., ACEDO, T. S., VASCONCELLOS, G. S. F. M., PIRES, A. V., ... SILVA, S. L. Effects of a blend of essential oils and exogenous α -amylase in diets containing different roughage sources for finishing beef cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 114643, 2020.
- TRICARICO, J. M.; ABNEY, M. D.; GALYEAN, M. L.; RIVERA, J. D.; HANSON, K. C.; MCLEOD, K. R.; HARMON, D. L. Effects of a dietary *Aspergillus oryzae* extract containing alpha-amylase activity on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 85:802– 811. doi:10.1128/AEM.69.8.5011-5014.2003, 2007.
- TRICARICO, J. M.; JOHNSTON, J. D.; DAWSON, K. A. Dietary supplementation of ruminant diets with an *Aspergillus oryzae* α -amylase. *Animal Feed Science and Technology*, 145(1-4), 136-150, 2008.
- VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B., LEWIS, B. A., 1991. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 10:3583-3597.
- VIGNALE, K.; GREENE, E. S.; CALDAS, J. V.; ENGLAND, J. A.; BOONSINCHAI, N.; SODSEE, P.; COON, C. N. 25-hydroxycholecalciferol enhances male broiler breast meat yield through the mTOR pathway. *The Journal of nutrition*, 145(5), 855-863, 2015.
- WATANABE, D. H. M.; BERTOLDI, G. P.; SANTOS, A. A.; SILVA FILHO, W. I.; OLIVEIRA, L. F. R.; PINTO, A. C. J.;...MILLEN, D. D. Growth performance and rumen morphometrics of Nellore and ½ Angus/Nellore feedlot cattle adapted over 9 and 14 days to high-concentrate diets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2021. doi:10.1111/jpn.13542.
- WEISS, W. P., H. R. CONRAD, AND R. S. PIERRE. A theoretically based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. *Anim. Feed Sci. Technol.* 39:95–119. doi:10.1016/0377-8401(92)90034-4, 1992.
- WEISS, W. P., AZEM, E., STEINBERG, W., & REINHARDT, T. A. Effect of feeding 25-hydroxyvitamin D₃ with a negative cation-anion difference diet on calcium and vitamin D status of periparturient cows and their calves. *Journal of Dairy Science*, 98(8), 5588-5600, 2015.
- WERTZ, A.E.; KNIGHT, T.J.; TRENKLE, A.; SONON, R.; HORDT, R.L.; HUFFLONERGAN, E.J.; BEITZ, D.C. Feeding 25-hydroxyvitamin D₃ to improve beef tenderness. *Journal of Animal Science*, v. 82, p. 1410-1418, 2004.
- ZILIO, E. M.; DEL VALLE, T. A.; GHIZZI, L. G.; TAKIYA, C. S.; DIAS, M. S.; NUNES, A. T.; ... & RENNÓ, F. P. Effects of exogenous fibrolytic and amylolytic enzymes on ruminal fermentation and performance of mid-lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 102(5), 4179-4189, 2019.
- ZINN, R. A.; SHEN, Y. An evaluation of ruminally degradable intake protein and metabolizable amino acid requirements of feedlot calves. *Journal Animal Science*., 76:1280-128, 1998.

CAPÍTULO III

IMPLICAÇÕES

Os ionóforos são aditivos antimicrobianos comumente utilizados na formulação das dietas de bovinos de corte confinados, devido principalmente ao seu efeito na modulação da fermentação ruminal, resultando em aumento da eficiência alimentar e do desempenho animal. No entanto, por questões relacionadas à segurança alimentar, o uso desses antibióticos promotores de crescimento vem enfrentando algumas restrições, como por exemplo, em 2006 a União Europeia proibiu a sua utilização uma vez que, poderia resultar na presença de resíduos nos produtos de origem animal.

Diante deste cenário, é necessária a implantação de novas tecnologias que garantam a qualidade e a segurança alimentar dos produtos como carne e leite sem, no entanto, inviabilizar a atividade. Alternativas promissoras como óleo essenciais, enzimas exógenas e vitaminas foram as propostas neste estudo.

Neste sentido, foi desenvolvido um *Blend* de óleos essenciais composto por timol, eugenol, limoneno e vanilina com ações antimicrobianas, que assim como os ionóforos, pode modular a microbiota ruminal e aumentar o desempenho animal. As ações dos óleos essenciais ainda não estão totalmente elucidadas, mas acredita-se que seja muito parecida com a ação dos ionóforos selecionando bactérias no ambiente ruminal. No presente estudo, diferente da monensina sódica, a utilização de óleos essenciais aumentou o consumo de ração e foi capaz de suportar a alta fermentação de substrato, mantendo o pH ruminal acima de 5,8, valor este limite para a ocorrência de acidose subaguda. Sendo a acidose ruminal um dos principais distúrbios metabólicos que causam prejuízos na atividade de confinamento, os óleos essenciais mostraram-se capaz de melhorar o controle do pH ruminal quando os bovinos são alimentados com dietas ricas em concentrado.

A inclusão da enzima exógena α -amilase foi proposta para aumentar a digestão do milho. Sabe-se que o tipo de milho utilizado no Brasil é do tipo “*flint*” (duro) e tecnologias que visam melhorar sua digestão no trato digestivo são imprescindíveis para aumentar a eficiência da digestão do amido e consequentemente o desempenho animal. Nas condições experimentais utilizadas, a combinação do *Blend* com a α -amilase melhorou a saúde ruminal e aumentou o desempenho, possivelmente devido ao aumento da digestão do amido, suposição está que pode ser comprovada por meio da análise de digestibilidade do amido. Ainda, não houve um tratamento somente com *Blend*, sem adição de α -amilase para avaliar os benefícios ou efeitos adicionais da enzima.

Pesquisas focadas no aumento do desempenho com a suplementação de 25-hidroxitamina D₃ são escassas, mas a sua inclusão resultou em um ganho adicional de

0,71% no rendimento de carcaça, possivelmente devido suas ações que desencadeiam aumento no anabolismo e síntese de proteína muscular. Além disso, apesar dos resultados controversos encontrados na literatura, acredita-se que a suplementação com 25-hidroxitamina D₃ pode aumentar as concentrações plasmáticas de Ca ionizado e assim, melhorar as características de maciez da carne. No entanto, no presente estudo a suplementação com 25-hidroxitamina D₃ foi eficaz em aumentar os níveis de 25-hidroxitamina D₃, mas não do Ca ionizado e Ca muscular. Neste sentido, coletas de sangue intermediárias seriam interessantes para avaliarmos o comportamento dos níveis plasmáticos de 25-hidroxitamina D₃ e Ca ionizado, para sabermos se a resposta do tecido ao hormônio foi perdida ao final dos 102 dias de experimento. Vale destacar aqui, que os animais estavam alojados em uma baia que continha sombra, mas também tinham livre acesso ao sol, por isso é importante levar em consideração a influência da radiação ultravioleta sobre os animais. Somado a isto, as carnes não passaram por um tempo de maturação para as avaliações de qualidade de carne, e isso pode ter influenciado nos resultados obtidos, principalmente àqueles relacionados com a força de cisalhamento.

Variáveis sanguíneas, de ultrassom de carcaça e qualidade de carne dependem de um banco de dados mais robusto para obter-se diferenças mais significativas. Por isso, possivelmente o baixo número de unidades experimentais (8 animais/tratamento) utilizadas no presente estudo também pode ter sido um fator limitante para obtermos respostas positivas em relação as hipóteses sanguíneas e de qualidade da carne.

Em geral, os resultados do experimento mostram que em relação ao desempenho produtivo e saúde ruminal, a combinação do *Blend* de óleos essenciais com a enzima α -amilase é uma alternativa aos ionóforos. Além disso, a suplementação com 25-hidroxitamina D₃ mostrou resultados muito promissores em relação ao rendimento de carcaça dos animais e mesmo com a sua ausência na dieta, não houve alterações nos atributos relacionados a qualidade da carne. Além das vantagens supracitadas, os aditivos utilizados no presente estudo como *Blend* de óleos essenciais, α -amilase e 25-hidroxitamina D₃ não deixam resíduos na carne e não possuem restrições no comércio mundial de carne bovina, por isso podem ser recomendados para pecuaristas que buscam segurança alimentar e incrementos de produtividade.