

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

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE 25-HIDROXI-VITAMINA D₃ NA DIETA
DE BOVINOS DE CORTE CONFINADOS

TAINÁ EBURNEO MARTINS

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

BOTUCATU – SP

Abril- 2020

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

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE 25-HIDROXI-VITAMINA D₃ NA DIETA
DE BOVINOS DE CORTE CONFINADOS

TAINÁ EBURNEO MARTINS

Orientador: Prof. Dr. Mário De Beni Arrigoni
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Cyntia Ludovico Martins

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Zootecnia como parte das exigências
para obtenção do título de Mestre em
Zootecnia

BOTUCATU - SP

Abril- 2020

“Permitida à cópia total ou parcial deste documento, desde que citada à fonte”.

M386e	Martins, Tainá Eburneo Efeitos da suplementação de 25-hidroxi-vitamina D3 na dieta de bovinos de corte confinados / Tainá Eburneo Martins. -- Botucatu, 2020 67 p. : il., tabs. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu Orientador: Mário De Beni Arrigoni Coorientadora: Cyntia Ludovico Martins 1. Zootecnia. 2. Bovinos. 3. Confinamento. 4. Suplementação. 5. Vitamina D3. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Tainá Eburneo Martins nasceu em 19 de novembro de 1993 na cidade de Botucatu – SP, filha de Gerson Luis Martins e Luciara Regina Eburneo Martins. Graduiu-se em Zootecnia pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Campus de Botucatu, em 2017. Ingressou no Mestrado em 2018 na mesma instituição, sob orientação do Prof. Dr. Mário De Beni Arrigoni e co-orientação da Prof^a. Dr^a. Cyntia Ludovico Martins.

DEDICATÓRIA

Dedico à elaboração deste trabalho a toda minha família, em especial ao meu pai Gerson, minha mãe Luciara e minha irmã Amanda, que sempre foram meus exemplos, além da presença, dedicação, confiança, apoio, amor, educação e conquistas durante toda a minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer ao meu orientador Prof. Dr. Mário De Beni Arrigoni, pela confiança e ensinamentos durante a minha passagem pela Universidade.

À Prof^a. Dr^a. Cyntia Ludovico Martins pela co-orientação, amizade, incentivo, ensinamentos durante todo meu caminho na Universidade e todo esforço para a elaboração, realização e conclusão deste projeto.

Aos meus pais Gerson e Luciara, por sempre acreditarem em mim, me apoiando e incentivando em minhas decisões. A minha irmã Amanda, por sempre estar ao meu lado e ser o meu exemplo de mulher e pesquisadora. A toda minha família, por todo o amor e apoio a seguir meus sonhos e objetivos.

A todos os amigos que fizeram parte da equipe de pós-graduação, por todas as trocas de experiências, conhecimentos e diversão. E aos amigos de graduação e de Botucatu, que sempre me ajudaram e apoiaram de alguma forma.

À Empresa Júnior de Nutrição de Ruminantes – NUTRIR, grupo do qual tive a honra de fazer parte e cujas experiências vividas estarão comigo para toda a vida. Aos ex-diretores da NUTRIR, pois junto deles enriqueci meu desenvolvimento pessoal e profissional. A todos os estagiários que ajudaram na condução do experimento com muito empenho e dedicação.

À empresa DSM, pelo apoio financeiro e confiança para realização deste experimento que deu origem a esta dissertação.

Aos funcionários e demais professores do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, Departamento de Produção Animal, Supervisão das Fazendas de Ensino Pesquisa e Extensão da FMVZ, aos anos de aprendizado.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, aos anos de graduação e pós-graduação, possibilitando o meu aprimoramento, tanto pessoal quanto profissional e acadêmico.

À coordenação do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida, vigência 03/2018 a 03/2020.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pelo apoio no presente trabalho realizado - Código de Financiamento 001.

Gostaria de deixar meu agradecimento a todos que fizeram parte e contribuíram de alguma forma para a realização deste projeto.

RESUMO GERAL

O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência da suplementação de 25-hidroxicolecalciferol no desempenho produtivo, características de carcaça, qualidade da carne e na expressão de genes relacionados ao anabolismo e ao catabolismo do músculo esquelético de bovinos de categoria Nelore confinados. Cento e vinte machos, com peso inicial médio de 370 ± 20 kg provindos de pastagem contínua, foram divididos em três tratamentos de acordo com a quantidade suplementada ou não a dieta durante o período experimental: T1 - tratamento controle sem inclusão de 25-hidroxicolecalciferol; T2 - dieta + 1mg/cab/dia de 25-hidroxicolecalciferol; T3 - dieta + 3mg/cab/dia de 25-hidroxicolecalciferol, delineados em blocos casualizados (40 animais por tratamento, 5 animais por baia e 8 baias por tratamento, sendo as baias as unidades experimentais). A duração do experimento foi de 96 dias, sendo 15 dias de adaptação, divididos em dois períodos (7 e 8 dias) de dietas com níveis crescentes de concentrado (76% e 81%), respectivamente; 28 dias de crescimento e a partir desse período foram fornecidas as dietas de terminação durante 53 dias com 91% de concentrado. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o procedimento PROC MIXED do software SAS (2003) e o teste de Tukey para comparação entre as médias, considerando significativos valores de $p \leq 0,05$. No período total do confinamento, a suplementação com 1 mg aumentou o rendimento de carcaça dos animais e os resultados de pH da carne mostrou um aumento linear entre os tratamentos. Além disso, para as variáveis de 25(OH)D₃ sanguíneo, iCa e Ca muscular os resultados foram maiores para o tratamento com 3 mg, com interação tratamento e fase para 25(OH)D₃ sanguíneo e iCa ($p=0,04$), houve ainda um aumento em Ca sanguíneo para o tratamento com 1 mg. Na gasometria, para T°C o resultado foi maior no tratamento com 3 mg e menor para pH. Para as variáveis de glicose e lactato, ambas aumentaram conforme os tratamentos. O pH da carne foi maior para o tratamento com 3 mg, e para a composição física o tecido adiposo diminuiu quando comparado o controle com os tratamentos suplementados. Não houve diferença significativa para expressão gênica da carne. Desta maneira, a suplementação de 1 mg de 25-hidroxicolecalciferol mostrou resultados significativos no rendimento de carcaça, cálcio sanguíneo, cálcio muscular e pH da carne. Entretanto, são necessários estudos complementares que analisem a relevância dos níveis dos efeitos dessa suplementação com um aprofundamento abrangente em bovinos confinados.

Palavras chave: bovinos, carcaça, carne, confinamento.

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the efficiency of 25-hydroxycalciferol supplementation in productive performance, carcass characteristics, meat quality and expression of genes related to anabolism and catabolism of skeletal muscle in Nellore cattle. One hundred and twenty male from continuous pasture, with an average initial weight of 370 kg $\pm$ 20 kg, divided into three treatments: T1: control treatment without the inclusion of 25-hydroxycalciferol, T2: diet + inclusion of 1 mg / cab / day of 25-hydroxycalciferol and T3: diet + inclusion of 3 mg / cab / day of 25-hydroxycalciferol, outlined in randomized blocks (40 animals per treatment, 5 animals per pen and 8 pens per treatment, the pens being the experimental units). The duration of the experiment was 96 days, with 15 days of adaptation, divided into two periods (7 and 8 days) of diets with increasing levels of concentrate (76% and 81%), respectively; 28 days of growth and after that period the termination diets were provided for 53 days with 91% concentrate. The selected data will be used in the analysis of variance using the PROC MIXED procedure of SAS software (2003) and Tukey test for comparison between media, considering P values $\leq$ 0.05. In the total feedlot period, supplementation with 1 mg increase carcass yield and meat pH results showed a linear increase between treatments. In addition, for the variables of blood 25 (OH) D3, iCa and muscle Ca the results were higher for the treatment with 3 mg, with treatment and phase interaction for blood 25 (OH) D3 and iCa ($p = 0.04$), there was also an increase in blood Ca for the 1 mg treatment. In gas analysis, for T ° C the result was higher in the treatment with 3 mg and lower for pH. For the glucose and lactate variables, both increased according to the treatments. The pH of the meat was higher for the treatment with 3 mg, and for the physical composition, the adipose tissue decreased when compared to the control with the supplemented treatments. There was no significant difference for gene expression of meat. Thus, supplementation of 1 mg of 25-hydroxycalciferol showed significant results in carcass yield, blood calcium, muscle calcium and meat pH. However, further studies are needed to analyze the relevance of the levels of the effects of this supplementation with a comprehensive deepening in feedlot cattle.

Key words: cattle, carcass, feedlot, meat.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 1. Concentração de cálcio ionizado (mmol/L) no sangue de bovinos confinados suplementados com níveis de 25-hidroxicolecalciferol.	54
Figura 2. Níveis de 25-OH-D ₃ (ng/ ml-1) no sangue de bovinos confinados suplementados com níveis de 25-hidroxicolecalciferol.	54
Figura 3. Expressão do marcador antioxidante (SOD1).	59
Figura 4. Expressão do gene anabólico IGF1.	60
Figura 5. Expressão de mRNA dos genes anabólicos IGF2 e mTOR.....	60
Figura 6. Expressão do mRNA dos genes catabólicos FOXO1, murf1, Atrogina-1 e miostatina (mstn).	60

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Composição e conteúdo nutricional das dietas fornecidas aos animais durante o período experimental.....	43
Tabela 2. Valores de referência dos gases e metabólitos do sangue venoso de bovinos.....	45
Tabela 3. Desempenho de bovinos confinados suplementados com níveis de 25-hidroxicolecalciferol.	50
Tabela 4. Nível de 25-(OH)D ₃ , cálcio sanguíneo e muscular de bovinos confinados suplementados com níveis de 25-hidroxicolecalciferol.	53
Tabela 5. Perfil metabólico sanguíneo de bovinos confinados suplementados com níveis de 25-hidroxicolecalciferol.....	56
Tabela 6. Características de carcaça de bovinos confinados suplementados com níveis de 25-hidroxicolecalciferol.....	57
Tabela 7. Qualidade da carne músculo <i>Longissimus Thoracis</i> de bovinos confinados suplementados com níveis de 25-hidroxicolecalciferol.	58
Tabela 8. Composição física da seção HH das 9ª a 11ª costelas de bovinos confinados suplementadas com níveis de 25-hidroxicolecalciferol.	58
Tabela 9. qPCRs utilizados para análises da expressão gênica no músculo esquelético de bovinos confinados suplementado com níveis de 25-hidroxicolecalciferol.	59

LISTA DE ABREVIACÕES

CAST- Calpastatina

CAPN1- u-calpaína

CAPN2- m-calpaína

EE- Extrato etéreo

FDN- Fibra em detergente neutro

FDA- Fibra em detergente ácido

IMS- Ingestão de massa seca

MS- Matéria Seca

MM- Matéria mineral

NDT- Nutrientes digestíveis totais

PB- Proteína bruta

PSPS- Penn State Particle Separator

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	13
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	14
1. REVISÃO DE LITERATURA	15
1.1. A cadeia da pecuária de corte e suas inovações	15
1.2. Metabolismo da Vitamina D3	17
1.3. Metabolismo de Cálcio e Fósforo	19
1.4. Importância da Vitamina D3 e 25- hidroxicolecalciferol	21
1.4.1. Sistema Proteolítico: Calpaína e Calpastatina	21
1.4.3. Saúde humana: resíduos de vitamina D ₃ e 25- hidroxicolecalciferol	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
CAPÍTULO 2	37
1. INTRODUÇÃO	40
2. MATERIAL E MÉTODOS	41
2.1. Animais e Local Experimental	41
2.2. Delineamento Experimental	41
2.3. Manejo, Arraçoamento e Cuidados com os Animais	41
3. PARÂMETROS AVALIADOS	44
3.1. Desempenho produtivo	44
3.1.1. Flutuação da ingestão de matéria seca	44
3.2. Avaliação do Cálcio Plasmático de Bovinos	44
3.3. Padrão de crescimento muscular e adiposo de bovinos	45
3.4. Determinação de Cálcio no Tecido Muscular de Bovinos	45
3.5. Avaliação da qualidade de carne	46
3.6. Análise de expressão gênica de genes relacionados ao anabolismo e catabolismo muscular	47
4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	49

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
6. CONCLUSÃO	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
CAPÍTULO 3.....	66
IMPLICAÇÕES	67

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O perfil da pecuária no Brasil passa por constantes mudanças, correspondendo a 31% do PIB total do agronegócio (ABIEC, 2018) e 8,7% do PIB total brasileiro no ano de 2018 (ABIEC, 2019). Dentre essas mudanças, podemos citar o número de rebanho, produção, eficiência, qualidade, exportação, importação e consumo de carne bovina. O Brasil possui o maior rebanho comercial do mundo com 214,7 milhões de cabeças de bovinos (ABIEC, 2019), dos quais são animais criados predominantemente a pasto, seguido pela Índia e Estados Unidos, respectivamente (ABIEC, 2019). Dessa maneira, os produtores estão constantemente em busca de alternativas para maximizar a eficiência da produção de carne com novas tecnologias, melhorando o sistema de criação. De acordo com Oliveira e Millen (2014), a terminação em confinamento cresceu consideravelmente na última década, chegando à estimativa de 12,6% do total de animais abatidos no ano de 2018 (ABIEC, 2019), tornando-se uma alternativa para intensificação dos processos produtivos.

Além disso, uma das estratégias utilizadas para melhorar a eficiência, características de carcaça e desempenho dos animais, para uma produção de carne de melhor qualidade, é o melhoramento genético (SILVA, 2016) aliado a uma nutrição e suplementação balanceada, ainda, estudos evidenciam que dentre as alternativas usuais de suplementação capazes de melhorar o aproveitamento dos nutrientes pelos animais através da dieta, podemos citar a utilização de aditivos alimentares (ionóforos ou leveduras vivas) (RIGUEIRO, 2019; RIGOBELLO et al., 2014; GOMES et al., 2011), além do uso de dietas ricas em concentrado no confinamento (PEREIRA et al., 2019) e da utilização de níveis supranutricionais de compostos como vitaminas e minerais.

As inovações nutricionais capazes de proporcionar uma carne de melhor qualidade aliada ao desempenho dos animais são crescentes, a utilização de vitaminas destaca-se principalmente pelo controle de processos metabólicos e fisiológicos nos animais (ZEOULA e GERON, 2006). Em bovinos de corte, as vitaminas fundamentais utilizadas na suplementação em dietas são A, D, E, onde a vitamina D tem uma participação na regulação da homeostase de cálcio e fósforo com aumento da captação intestinal estimulando a reabsorção óssea, atuando no sistema imunológico e no processo de *rigor mortis*, aumentando as enzimas proteolíticas dependentes de cálcio como as calpaínas e promovendo o amaciamento da carne (MONTGOMERY et al., 2000), tornando-se uma alternativa.

Em bovinos, o uso da suplementação de vitamina D₃ e seu metabólito 25-hidroxicolecalciferol na dieta mostra eficácia principalmente na elevação da concentração de seus metabólitos na carne, produzindo carnes com maior maciez (FOOTE et al., 2001), entretanto, pesquisas mostram que em aves e suínos suas utilizações são crescentes em relação a desempenho, utilização do Ca e P muscular, parâmetros ósseos, morfologia intestinal e imunidade (GARCIA, 2012; BARROS, 2010, SOUZA, 2012; SOUZA; VIEITES., 2014).

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência da suplementação de 25-hidroxicolecalciferol no desempenho produtivo, características de carcaça, qualidade da carne e na expressão de genes relacionados ao anabolismo e ao catabolismo do músculo esquelético de bovinos Nelores confinados.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. A cadeia da pecuária de corte e suas inovações

O Brasil possui uma grande extensão territorial, onde o agronegócio se torna um fator econômico extremamente importante para a sociedade mundial estando diretamente ligado à alimentação humana. Assim, a produção de carne bovina tem grande importância, no qual o país possui ótimas condições territoriais e climáticas para produzir de forma eficiente, contribuindo para a economia da atividade em relação ao Produto Interno Bruto (PIB) do país. Segundo a ABIEC (2019), o Brasil possui o maior rebanho mundial com 214,7 milhões de cabeça de bovinos, sendo o maior produtor e segundo maior consumidor com uma estimativa de 8,811 mil toneladas no ano de 2018, ficando atrás dos Estados Unidos.

Além disso, em relação ao mercado mundial, o Brasil detém a posição de maior exportador de carne bovina (ABIEC, 2019). Com isso, a abertura do mercado externo para o Brasil tem crescido e, associado a forte concorrência no mercado interno, resultou em maior pressão por produção com maior qualidade do produto, levando os pecuaristas a buscarem um aperfeiçoamento na sua gestão de produção, a fim de fornecerem animais com bom acabamento de carcaça e produzindo uma carcaça cada vez mais padronizada.

Segundo Cervieri (2005), o número de bovinos terminados em confinamento foi de 1,9 milhões de animais, cerca de 5% do total de animais abatidos. Em 2008, foram abatidos aproximadamente 36 milhões de bovinos (IBGE, 2008), e de acordo com Millen et al. (2009) 8,7% desses animais foram terminados em confinamentos. Segundo Sumário ABIEC (2018),

o número de animais confinados no ano de 2017 foi de 4,09 milhões de cabeças, valor equivalente a 10,44% do total de abates no Brasil. Atualmente, o total de bovinos confinados gira em torno de 5,58 milhões de cabeças em 2018, ou seja, 12,6% do abate total (ABIEC, 2019). Isto indica o crescente aumento no número de bovinos confinados no Brasil, reflexo da crescente demanda mundial por carne bovina, além do aumento da procura de carne de melhor qualidade, e aonde a inclusão de novas tecnologias (grãos e subprodutos, aditivos alimentares, promotores de crescimento, melhoramento genético) tornam-se necessários para aumentar a eficiência do sistema de produção.

Com o melhoramento genético, foram conseguidos progressos substanciais na criação de animais de interesse zootécnico. Esses progressos resultaram de aperfeiçoamentos significativos na seleção genética, na nutrição, no manejo e no controle adequado de doenças e neste sentido, vem apresentando resultados positivos à criação e nutrição de animais. Esses resultados incluem melhores desempenhos e características de carcaça em bovinos de corte.

Além do melhoramento genético, os aditivos alimentares também são alternativas nutricionais utilizadas na indústria de bovinos de corte, onde os ionóforos são mais utilizados. Millen et al. (2009) através de levantamento realizado com nutricionistas de bovinos confinados no Brasil, reportaram que 100% dos confinamentos atendidos pelos nutricionistas entrevistados utilizam ionóforos como principal aditivo alimentar, sendo a salinomicina, monensina sódica, e lasalocida. Os resultados positivos com a utilização de ionóforos nas dietas são crescentes, isto porque eles atuam diretamente na microbiota ruminal, melhorando o metabolismo energético e aumentando o desempenho de bovinos em confinamento (PERRY et al., 1976; RUSSELL; STROBEL, 1989; BERGEN; BATES, 1984; CLARY et al., 1993).

Desta maneira, com as crescentes respostas positivas na utilização de ionóforos em confinamento, aliado a seleção genética para características de melhor ganho de peso e eficiência, inovações na suplementação de dietas são importantes estratégias capazes de explorar mecanismos fisiológicos visando uma carne de melhor qualidade, beneficiando toda a cadeia da pecuária de corte.

As vitaminas são utilizadas em animais de produção, devido ao controle de muitos processos metabólicos, onde algumas são encontradas naturalmente nos alimentos (ZEOULA; GERON, 2006) e são requeridas em quantidades muito pequenas nas dietas de bovinos de corte. A vitamina D está associada ao controle de calcemia e ao combate ao raquitismo. Descobertas de que possíveis tecidos do organismo animal apresentem receptores de vitamina D, convertendo a forma calcidiol em sua forma ativa calcitriol (PROWEDINI, 1983) deram

maior ênfase em suas funções não esqueléticas e como seria a ativação sistêmica para estes receptores de vitamina D (HOLICK, 2002). Desse modo, iniciaram-se pesquisas relacionando a vitamina D com outras funções no organismo como: participação no sistema imune (CANTORNA; MAHON, 2004), sistema nervoso (GARCION, et al, 2002), produção de insulina (ZEITZ, et al, 2003), entre outros.

Dessa maneira, alguns dos efeitos benéficos da vitamina D₃ em bovinos de corte estão na crescente concentração de cálcio no plasma, resultados que podem estar ligados à aceleração do processo de amaciamento da carne (SWANEK et al., 1999; KOTRLA et al., 2001; MONTGOMERY et al., 2000, 2001; KARGES et al., 2001; FOOTE et al., 2004).

Além disso, inovações vêm surgindo associado ao metabólito da vitamina D₃, 25-hidroxicolecalciferol (25(OH)D₃) como suplementação em dietas, possibilitando explorar melhor os efeitos em bovinos de corte em termos de fisiologia, desempenho, qualidade de carne, parâmetros sanguíneos e expressão gênica (PÓLTORAK et al., 2017; REZENDE et al, 2013; CHO et al., 2006; CARNAGEY et al., 2008ab; KNOCK et al., 2007; FOOTE et al., 2004). Pesquisas mostram que em aves e suínos sua utilização é crescente em relação a desempenho, utilização do Ca e P muscular, parâmetros ósseos, morfologia intestinal e imunidade (GARCIA, 2012; BARROS, 2010, SOUZA, 2012; SOUZA; VIEITES, 2014).

1.2. Metabolismo da Vitamina D₃

As vitaminas são um grupo de compostos orgânicos fundamentais para a manutenção das funções vitais no organismo. São classificadas conforme a sua solubilidade, agrupadas em hidrossolúveis e lipossolúveis. No grupo das hidrossolúveis estão as vitaminas do complexo B e C e nas lipossolúveis estão as vitaminas A, D, E e K. (JONES et al., 1998).

As vitaminas hidrossolúveis são produzidas pelos microrganismos ruminais através do metabolismo animal em quantidades essenciais, sem a utilização da suplementação através da dieta fornecida aos animais. As vitaminas lipossolúveis, não são produzidas pelo metabolismo dos animais, sendo necessária sua suplementação.

A vitamina D, inclui a ergocalciferol (vitamina D₂, que ocorre predominantemente em plantas) ou colecalciferol (vitamina D₃, que ocorre em animais). A vitamina D₂ é a forma sintética adicionada aos alimentos industrializados, apresentando um carbono a mais que a vitamina D₃ (sendo 28 carbonos em sua estrutura), um grupo metil extra e uma dupla ligação entre os carbonos 22 e 23. A vitamina D₃ é a forma natural (presente nos tecidos animais) (McDOWELL, 1989).

No entanto, uma das funções primárias da vitamina D são a regulação e manutenção dos níveis de cálcio e fósforo do plasma por supersaturação, necessários para mineralização normal dos ossos. Isto se realiza por meio do estímulo da absorção intestinal do cálcio e fósforo, da mobilização do cálcio dos ossos e da melhora na reabsorção renal, além disso, a vitamina D tem função de absorção de cálcio e fósforo, reabsorção óssea quando necessário e efeitos imunomoduladores que são observados sobre a população de linfócitos, macrófagos e células citotóxicas naturais (BLEZINGER, 2001; BONDI, 1988; GAMAN; SHERRINGTON, 1981; WEISS, 1998).

As vitaminas D₂ e D₃ não são biologicamente ativas, sendo convertida a forma ativa por duas reações de hidroxilação. A vitamina D₃ ingerida é absorvida no intestino, transportada pelos vasos linfáticos, circulando no sangue venoso junto à proteína ligada à vitamina D₃ (*DBP-D Binding Protein*) (ELLIS et al., 2000).

Dessa forma, a primeira hidroxilação acontece na posição C25 sendo catalisada pela 25-hidroxilase após ser captada pelo fígado. O produto da reação (25-hidroxicolecalciferol (25-OHD₃)) é a forma predominante circulante no plasma em condições normais, sendo uma importante forma de armazenamento da vitamina (HORST; LITTLEDIKE, 1982; LITTLEDIKE; HORST, 1982).

A 25-hidroxicolecalciferol é posteriormente hidroxilada unida à proteína transportadora (transcalciferina) na porção C1 por ação da enzima mitocondrial 1 α -hidroxilase específica (1 α -25-hidroxicolecalciferol). O resultado é a formação de 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25-(OH)₂D₃) ou calcitriol, metabólito mais potente e na forma ativa da vitamina D, produzido quase exclusivamente no rim (ROBERT et al., 2002).

A 1 α -25-hidroxicolecalciferol é uma enzima encontrada nos ossos e na placenta, e funciona com o hormônio paratireóideo (PTH) para promover a homeostase do cálcio e do fósforo no sangue. O PTH atua com 1,25- dihidroxicolecalciferol regulando concentrações de cálcio e fósforo no plasma, ocorrendo posteriormente à redução do paratormonio e à elevaçãoda produção de fosfato (HORST, 1987).

O hormônio PTH também é um importante mediador da produção renal do 1,25-dihidroxicolecalciferol, isto é, da 25-hidroxicolecalciferol (HORST, 1987). A ação biológica do 1,25- dihidroxicolecalciferol é desencadeada juntamente com receptores celulares específicos (*VDR- vitamin D receptor*) através da maior afinidade, o 1,25-dihidroxicolecalciferol age nas células-alvo ligando-se ao receptor nuclear *VDR*. Após essa ligação ocorre uma interação com o elemento de resposta da vitamina D (*VDRE*) no DNA, levando à síntese de RNAm para várias proteínas (fosfatase alcalina nos osteoblastos,

osteocalcina e a proteína específica *calbindin* que possui afinidade pelo cálcio livre nas células intestinais, aumentando a captação deste íon). (REZENDE, 2011).

Para fins de produção animal, a Unidade Internacional (UI) de vitamina D equivale a 0,025 µg da forma D₃, para bovinos o requerimento utilizado é de 275 UI (6,875 µg de colecalciferol) por kg de Matéria Seca (NRC, 1996).

1.3. Metabolismo de Cálcio e Fósforo

O cálcio é um elemento mineral, fundamental e mais abundante no corpo do animal (1 a 2% do peso corporal), onde 99% ocorrem nos ossos e dentes e o restante é encontrado nos tecidos moles e no plasma sanguíneo (BERTECHINI, 2006). Quantidades de Ca estão presentes em quase todos os alimentos, geralmente deficiente em grãos e abundante na maioria das forragens (NRC, 1980).

Além disso, o Cálcio possui importantes efeitos fisiológicos no animal, como mineralização óssea, na regulação metabólica e coagulação sanguínea, contração muscular e cardíaca e transmissão de impulsos nervosos (BACILA, 2003; BERTECHINI, 2006 MAZZUCO, 2006).

O fósforo é o segundo elemento mineral mais abundante encontrado no corpo do animal (0,7 a 1,2% do peso corporal), 80% está nos ossos e dentes, 3% no trato-gastrointestinal (TGI) enquanto o restante faz parte dos demais tecidos do organismo (BERTECHINI, 2006). O fósforo está presente em todos os alimentos comuns, as sementes são uniformemente maiores em P do que as forrageiras, como farelo de trigo, além dos alimentos que contém leite e ossos (McDOWELL, 1992).

O fósforo desempenha importante papel da estrutura e função das células, como mineralização óssea, transmissão genética (componente de DNA e RNA), parte de compostos de alta energia (ATP), regulação de enzimas alostéricas e componentes de fosfolipídios estruturais, ácidos nucleicos e de fosfoproteínas (DIBARTOLA, 2007).

O cálcio e fósforo constituem cerca de 70% do total de minerais presentes no corpo animal (BERTECHINI, 2006). O mecanismo de absorção do cálcio depende de vários fatores, como vitamina D, ATPase, fosfatase alcalina intestinal, fatores que aumentam ou diminuem sua solubilidade, proteína ligadora de cálcio no enterócito (*calbindin*), proteína ligadora de cálcio no plasma, entre outros (BONFIM, 2008).

A concentração normal de cálcio no plasma é na ordem de 8,8 a 10,4 mg/dL, sendo que aproximadamente 45% é em sua forma livre ionizada, e 45% em sua forma orgânica, onde se

encontra ligado às proteínas plasmáticas (45% a albumina e 10% ácidos orgânicos). O cálcio total, formado pela qual é medido no sangue, contém a forma ionizada, que pode ser determinado desde que esteja na forma ativa do cálcio no plasma (McDOWELL, 1992; GRÜTDNER, 1997), e a forma não ionizada. Ambas as formas são dependentes do pH, da concentração de albumina e da relação ácido-base para manter seu equilíbrio e distribuição final.

O paratormônio e a calcitonina (secretado pela glândula tireoide) regulam o nível de cálcio sérico. Sua redução leva a um aumento do paratormônio, estimulando a síntese de vitamina D ocasionando o aumento da reabsorção óssea do cálcio. Através disso, ambos estimulam a liberação e o aumento do nível de cálcio no sangue, inibindo a secreção de paratormônio. (WHITNEY; ROLFES, 2008).

Por outro lado, com o aumento do cálcio sérico, ocorre a liberação de calcitonina, inibindo a síntese da vitamina D, resultando em menor absorção intestinal e reabsorção óssea do cálcio. Após a diminuição do nível de cálcio sérico, a secreção de calcitonina é inibida (WHITNEY; ROLFES, 2008).

A absorção de cálcio no intestino é afetada por vários fatores. Animais mais velhos sofrem redução na capacidade de mobilizar reservas quando ocorrem desequilíbrios, sendo mais susceptíveis a hipocalcemia. Além da idade, existe ainda a relação Ca:P nos alimentos (relação ótima 2:1), a quantidade de proteína na dieta, a ingestão excessiva de magnésio, e a suplementação excessiva de vitamina D₃, que pode levar o animal a hipercalcemia (GONZÁLEZ et al., 2000).

A vitamina D, por meio de suas ações sobre a regulação do transporte de cálcio (ALBERS et al., 2002), síntese proteica (BIRGE; HADDAD, 1975) e cinética da contração (GLERUP, et al, 2000), é importante para manutenção da massa, da força e da velocidade de contração do músculo esquelético. Pesquisas com bovinos em terminação têm mostrado que a maciez da carne pode ser aumentada pela suplementação dietética de vitamina D₃ com o uso da vitamina D pela mobilização de cálcio para o músculo (MONTGOMERY et al., 2000, 2002). Sendo assim, ocorre o aumento da absorção de cálcio intestinal, o que resulta em maior quantidade de cálcio ligado às proteínas presentes no intestino. O cálcio livre é absorvido para corrente circulatória e utilizado em diferentes tecidos, enquanto o cálcio remanescente é depositado no músculo (STAN et al., 2003). As enzimas proteolíticas presentes nos músculos são cálcio dependente, como a calpaína, e serão as principais responsáveis pelo processo de amaciamento da carne (WHIPPLE; KOOHMARAIE, 1993).

Entretanto, o fósforo existe em combinações orgânicas dentro das células e inorgânicas no plasma, importante para o perfil metabólico.

A manutenção no nível de P no sangue ocorre similarmente pelos fatores que promovem o nível de Ca (MARTIN, 1993), entretanto, os dois minerais promovem problemas diferentes. O nível de P no sangue bovino oscila mais que a de Ca, em função da grande quantidade que se recicla via saliva e sua absorção no rúmen e intestino, auxiliando na digestão (GONZÁLEZ et al., 2000).

O aumento da absorção de P no intestino, causado pela vitamina D, é considerado um processo secundário, ou seja, ocorre devido à maior absorção de Ca. No entanto, alguns trabalhos sugerem que a absorção de Ca e P são processos independentes e controlados pela vitamina D (McDOWELL, 1992). A disponibilidade de P alimentar diminui com a idade do animal, os níveis de P no sangue são menores em animais mais velhos. Deficiências no fósforo não possuem efeitos imediatos, como é o caso do cálcio, porém, em longo prazo pode causar crescimento retardado, osteoporose progressiva, infertilidade e baixa produção. Níveis sanguíneos <3,0 mg/dl, conduz a perda de apetite, e em dietas com solos deficientes em P pode ocorrer a hipofosfatemia (GONZÁLEZ et al., 2000).

1.4. Importância da Vitamina D₃ e 25- hidroxicolecalciferol

1.4.1. Sistema Proteolítico: Calpaína e Calpastatina

A suplementação de vitamina D₃ ou seus metabolitos influenciam no sistema proteolítico, aumentando o seu acúmulo no músculo, composto pela ação do sistema das calpaínas e seu inibidor calpastatina (CAST), elevando sua atividade no *postmortem* (FOOTE et al., 2004; MONTGOMERY et al., 2000, 2002). A calpaína é uma enzima considerada localizada no citosol onde sua ativação é dependente do íon- cálcio (GEESINK et al. 2006).

O sistema enzimático das calpaínas é formado pela u-calpaína ou tipo I (CAPN1) e m-calpaína ou tipo II (CAPN2), nomeados em referência à quantidade necessária de cálcio para serem ativadas. Possui um importante papel nos principais processos intracelulares, e devido à sua localização na fibra muscular durante a transformação do músculo em carne, tem sido relatada sua atuação na degradação dos componentes do sarcômero, como a linha Z, as proteínas estruturais (titina, nebulina e desmina) e as proteínas que contribuem para estabilidade da fibra muscular (troponinas e tropomiosina) (GOLL et al, 2003; NETI et al., 2009).

Altos níveis de cálcio depositados próximos a linha Z, provocam a ativação precoce das μ e m-calpaínas que hidrolisam a troponina-T 17 presente no complexo actomiosina (SWANEK et al., 1999). Isso ocorre quando o músculo já transformado em carne volta a ser flexível, podendo resultar na condição denominada de *rigor mortis*, comercialmente conhecido como maturação da carne (OLIVO; OLIVO, 2005). Em média a μ -calpaína requer entre 5 e 65 μM de Ca^{2+} e a m-calpaína requer entre 300 e 1000 μM de Ca^{2+} (LI et al., 2009; VARRICCHIO et al., 2013), além disso, para realizar a proteólise, alguns estudos mostraram que as μ -calpaínas são ativadas quando o pH decai de 6,8 para aproximadamente 5,7; enquanto que as m-calpaínas são ativadas em pH em torno de 5,7 (LONERGAN et. al., 2010).

Há evidências que em pH entre 5,5 e 5,8 a μ -calpaína encontra-se inativada (KANAWA; TAKAHASHI, 2002). Além disso, devido a alteração nos níveis de pH, o substrato alvo das calpaínas tenham alterações em sua estrutura, tornando- os mais acessíveis para a sua atuação, aumentando assim a proteólise (LONERGAN et. al., 2010). Segundo Marsh et al. (1987) e Pike et al. (1993) o aumento de cálcio intracelular na faixa de pH entre 5,9 a 6,3 registrou uma tendência ao maior amaciamento da carne, como resultado da ativação da μ -calpaína. Durante o processo de maturação, apenas 30% de m-calpaína é ativada quando as concentrações de cálcio é da ordem de 100 μM em músculos *post mortem* (DRANSFIELD, 1994).

Por outro lado, a calpastatina é um substrato para as calpaínas e pode ser degradada na presença de cálcio (KOOHMARAIE, 1988). Sua degradação não conduz a perda total de atividade inibitória e até mesmo depois de uma proteólise intensa, alguma atividade ainda permanece. A quantidade de cálcio requerido pelas calpastatinas para formar o complexo calpaína-calpastatina é aproximadamente a mesma requerida pela μ -calpaína. Embora a ação das calpastatinas também seja dependente de cálcio, elas não se ligam de forma efetiva a esses íons (HOPKINS; TAYLOR, 2004).

Além disso, alguns estudos demonstraram que a atividade da calpastatina, inibidor endógeno de ambas as calpaínas, geram carnes com maior força de cisalhamento, decorrente da diminuição da proteólise das proteínas miofibrilares no *post-mortem* (GOLL et al., 2003; KENT et al., 2004; CASAS et al., 2006; KEMP et al., 2010; CHUNG; DAVIS, 2012), considerado o maior modulador de ação proteolítica destas enzimas e o principal regulador da atividade proteolítica das calpaínas (KOOHMARAIE, 1994). Entretanto, existe uma relação entre a atividade de calpastatina no músculo 24 h após o abate e o grau de maciez alcançado após o condicionamento, com diferenças na contabilização de calpastatina por 40% da variação de maciez (SHACKELFORD et al., 1994).

1.4.2. Eficiência da Suplementação com Vitamina D₃ e 25- hidroxicolecalciferol

Segundo Kabeya (2007), o uso de vitaminas para fins zootécnicos em animais, além de beneficiar o desenvolvimento do animal, aumenta a sua resistência a doenças e o seu desempenho produtivo. Através disso, a suplementação de vitamina D₃ para bovinos de corte, cujo sistema de produção pode ser em áreas totalmente cobertas, é importante pelo fato de que esses animais não tem acesso à exposição da radiação ultravioleta (UV). A eficiência desta suplementação depende do nível de exposição dos animais aos raios ultravioletas (HIDIROGLOU et al., 1979; WERTZ et al., 2004).

Componentes de variância ambientais importantes como, estação do ano, hora do dia, latitude e altitude geográfica influenciam na intensidade de radiação ultravioleta (HOLICK, 2002), além disso, há influência dos componentes fisiológicos como: pigmentação da pele, idade, sexo, raça, (HOLICK, 2002; MOISE et al., 1999) e componentes nutricionais como: sistema de produção, composição dos alimentos das dietas e tipos de forragens utilizadas.

Segundo Hidirolou et al. (1979), animais criados a pasto apresentam maior concentração de 25(OH)D₃ no plasma (49 ng/mL) em relação aos animais criados em áreas cobertas (19 ng/mL), evidenciando a necessidade da suplementação, visto que esses animais apresentam uma quantidade menor do que o necessário diariamente (aproximadamente 25 ng/mL).

Rezende et al, 2013, estudaram a expressão de genes renais: 1-alfa25-hidroxicolecalciferol e 24- 25hidroxicolecalciferol, em bovinos suplementados com vitamina D₃ e expostos a luz solar, com o objetivo de determinar a interação do animal sob essas condições e a expressão dos genes, relacionando-os à maciez da carne, entretanto, os resultados indicaram que a suplementação a curto prazo de vitamina D₃ resultaram em níveis mais altos de 1,25 (OH)₂D₃, ocorrendo a indução da expressão do gene 1- alfa25-hidroxicolecalciferol antes de qualquer alteração na expressão 24- 25-hidroxicolecalciferol, e a falta de níveis maiores de cálcio no plasma ou músculo indicaram a necessidade de estudos que investiguem o papel do receptor na regulação da atividade da vitamina D₃.

Em frangos de corte, Rao *et al.* (2006) estudaram o fornecimento de vitamina D₃ em diferentes níveis sobre o desempenho e mineralização óssea, constatando aumento no ganho de peso e melhor conversão alimentar para esses animais. Edwards, (1989) e Kilburn & Edwards, (2001), avaliaram a utilização da vitamina D₃ e seus metabólitos (25(OH)D₃ e 1,25(OH)₂D₃), verificando uma redução na incidência de discondroplasia tibial com a

25(OH)D₃ e o 1,25(OH)₂D₃. Além disso, ocorreu um aumento no ganho de peso e peso dos ossos de acordo com aumento dos níveis de vitamina.

Segundo Berchielli et al., (2011), o fornecimento em excesso de vitamina D para bezerros e novilhos, acarreta em um crescimento reduzido (raquitismo) com enfraquecimento dos ossos. Estudos mostram que o excesso do uso de vitamina D₃ ocasionou numa queda no desempenho de bovinos, desencadeando a queda na ingestão de matéria seca, no peso vivo e no peso da carcaça (SCANGA et al. 2001; BERRY et al. 2000; ENRIGHT et al. 1998, 2000; MONTGOMERY et al., 2002; KARGES et al. 2001; MORGAN et al. 1999).

Araujo et al., (2019), testaram a combinação de cantaxantina com 25OHD₃, em dietas para frangos de corte e matrizes, e encontraram uma maior produção de ovos, melhora na reprodução dos reprodutores e desempenho, promovendo o desempenho de seus progênes com menor taxa de conversão alimentar e maior rendimento de carcaça e peito.

Além disso, Pedreira (2003) testou a influência da dosagem via oral de vitamina D₃(0, 3, 6 e 9 milhões de UI/animal/dia) nas características de carcaça de bovinos por um período de 10 dias antes do abate. Foi observado que o não fornecimento ou doses menores de vitamina D não afetaram as variáveis estudadas. Entretanto, Vargas et al., (1999a,b), em estudo com vitamina D₃ sozinho e em conjunto com vitamina E encontraram animais mais pesados, porém o GPD foi menor para animais tratados apenas com vitamina D₃ com a ingestão de matéria seca (IMS) similar para todos os tratamentos.

Em estudos realizados por Sommerfeldt et al., (1979) testando a degradação de vitamina D através da incubação por 24 horas no líquido ruminal, obtidos através de novilhos alimentados com dieta à base de forragem, mostraram perda de 75% de vitamina D. No entanto, a incubação de vitamina D no fluído ruminal esterelizado não foi degradado, indicando que a degradação foi devido à atividade dos microrganismos do rúmen. Contudo, esses microrganismos produziram metabólitos que possuem a atividade anti-vitamina D protegendo o rúmen dos animais da toxicidade quando há alta ingestão de vitamina D (BALLET et al., 2000). Aproximadamente 50% da vitamina D ingerida pelos ruminantes são absorvidas (McDOWELL, 1989). A vitamina D obtida através da dieta é absorvida no intestino, em associação com lipídios e presença de sais biliares (HOLICK, 2006).

No entanto, é provável que uma proporção de vitamina D suplementar na dieta seja danificada pelo rúmen dificultando sua absorção no intestino delgado. Esta é uma justificativa para manter o uso de vitamina D suplementar na dieta suprimindo sua falta durante os períodos de necessidade, dessa maneira, é importante dar atenção à hipervitaminose e à toxicidade da vitamina D. A desmineralização óssea severa (osteofibrosis) em conjunto com a

hipercalcemia e a ocorrência de cálculos urinários mais a calcificação de tecidos moles foi observada após doses crônicas entre 50 e 100 vezes (BALLET et al., 2000).

1.4.3. *Saúde humana: resíduos de vitamina D₃ e 25- hidroxicolecalciferol*

Por ser lipossolúvel, a vitamina D₃ e seus metabólitos se depositam nos tecidos, oferecendo efeitos negativos e toxicológicos, quando ingerida em níveis elevados por longos períodos de tempo. Em humanos, o consumo de carne, fígado e rins de animais suplementados com altos níveis de vitamina D₃ pode causar distúrbios no metabolismo do cálcio, podendo ser prejudicial à saúde (Montgomery et al., 2004a,b).

Entretanto, excessos de vitamina D₃ na dieta causam resíduos de 25(OH)D₃ na carne (MONTGOMERY et al., 2000, 2002; FOOTE et al., 2004). Para humanos, a ingestão de alimentos contendo alta concentração de vitamina D representa elevação no risco à saúde, especificamente, através da calcificação de tecidos moles e indução da calcificação arterial (RAJASREE et al., 2002).

Segundo Kotrla et al. (2001), a ingestão de doses de $3,5 \times 10^6$ por períodos de 6 a 13 dias de suplementação, resultou em um aumento na concentração de vitamina D₃ no fígado em até 280%, após a suplementação, os animais permaneceram por um período de 7 dias, sem a vitamina D₃ e sua concentração no fígado voltou ao normal.

De acordo com Montgomery et al. (2004b,d) encontraram resíduos de vitamina D₃ no músculo, rins, fígado e plasma de animais tratados 0,5; 1 e 5×10^6 UI de vitamina D₃ por oito dias antes do abate. A dosagem de 5×10^6 UI resultou em aumento de 75, 33 e 8 vezes na concentração de vitamina D₃ no fígado, rins e músculo, respectivamente, o cozimento do fígado a 75°C resultou em uma redução de 10-30% nas concentrações de vitamina D₃.

Foote et al. (2001), relatou que animais tratados com a vitamina D₃ e seus metabólitos (25(OH)D₃ e 1,25(OH)₂D₃) apresentaram uma quantidade substancial de resíduo de vitamina D₃ e 25(OH)D₃ nos cortes cárneos estudados (acém, contra filé e chã de dentro).

Bifes de animais tratados com vitamina D₃ apresentaram de 78 a 91 ng de vitamina D₃/grama, que é 24 vezes a mais que a concentração do controle (MONTGOMERY et al., 1999b; 2000a; 2002).

De acordo com o Comitê de Alimentação e Nutrição do Conselho Nacional de Investigação Americano, a recomendação diária para adultos de vitamina D é de 200 UI/dia, ou seja, 5 ug, visto que a quantidade varia de acordo com a idade. A dosagem necessária para se produzir a toxicidade varia de acordo com a sensibilidade individual, mas 50.000 unidades

de colecalciferol ao dia por mais de seis meses podem causar a toxicidade em indivíduos adultos (FELDMAN, 1997)

Em humanos, os efeitos do colecalciferol pode durar 2 meses após a suspensão da ingestão. Os sinais iniciais de toxicidade por vitamina D associada com hipercalcemia incluem náuseas ou vômitos, dores de cabeça intensa, diarreia, entre outros. Como sinais tardios, incluem urina turva, hipertensão arterial, arritmias cardíacas, dores musculares (COMBS, 1992) e ainda, como consequência, calcificação vascular generalizada, nefrocalcitose e calcificação dos tecidos moles, podendo levar o animal a morte como resultado da insuficiência renal.

Em função do risco toxicológico, são necessários mais estudos para determinar a dosagem e o tempo de administração da vitamina D₃ adequada para as melhorias de qualidade da carne, já que a dosagem de 1×10^6 de vitamina D₃ tem sido associada a uma grande deposição de resíduos na carne, fígados, rins de animais tratados (MONTGOMERY et al., 2002; 2004b,d).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC. **Beef Report 2019**. São Paulo: 2019. Disponível em: <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2019/>. Acesso em: 29 jan. 2020.

ABIEC. **Perfil da pecuária do Brasil: Relatório Anual, 2018**. São Paulo: 2019. Disponível em: <http://abiec.siteoficial.ws/images/upload/sumario-pt-010217.pdf>. Acesso em: 29 nov. 2019.

ANDERSON, M. J.; LONERGAN, S. M.; FEDLER, C. A.; PRUSA, K. J.; BINNING, J. M.; HUFF-LONERGAN, E. Profile of biochemical traits influencing tenderness of muscles from the beef round. **Meat Science**, v. 91, n. 3, p. 247-254, 2012.

ARAUJO, L. F.; ARAUJO, C. S. S.; PEREIRA, R. J. G.; BITTENCOURT, L. C.; SILVA, C. C.; CISNEROS, F.; HERMES, R. G.; SARTORE, Y. G. A; DIAS, M. T. The dietary supplementation of canthaxanthin in combination with 25OHD₃ results in reproductive, performance, and progeny quality gains in broiler breeders. **Poultry Science**, Oxford, v. 98, n. 11, p. 5801–5808, 2019.

BACILA, M. **Bioquímica veterinária**. 2.ed. São Paulo: Robe Editorial, 2003.

BALLET, N.; ROBERT, J. C.; WILLIAMS, P. E. V. Vitamins in Forages. In: D. I. Givens, E. Owen, R. F. E. Axford, H. M. Omed. **Forage evaluation in ruminant nutrition**. New York: Editora CABI Publishing, 2000. chap. 19, p. 399-431.

BARCELLOS, J.O.J. O papel do fósforo na nutrição de bovinos de corte. In: DIAZ GONZALEZ, F.H., OSPINA, H., BARCELLOS, J.O.J. (Eds.) **Nutrição mineral em ruminantes**, Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2.ed, p. 23-72, 1998.

BARRAL, D.; BARROS, A. C.; ARAÚJO, R. P. C. Vitamina D: Uma abordagem molecular. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria Clínica e Integrada**, João Pessoa, v. 7, n. 3, p. 309-315, 2007.

BARROS, R. **Efeito da vitamina D ativada no desempenho zootécnico e qualidade óssea de suínos**. 2010. 57f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S.G. Vitaminas. In: BERCHIELLI, T. T. PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. 2. ed. Jaboticabal, SP: Funep, Cap. 13, p. 369-414, 2011.

BERGEN, G. W.; BATES, D. B. Ionophores: their effect on production efficiency and more of action. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.58, n.6, p.1465-1483, 1984.

BERRY, B.A.; GILL, D.R.; BALL, R. Effects of feeding vitamin D on feedlot performance, carcass traits, and meat tenderness of finishing steers. **Animal Science Research Report**, Oklahoma State University, p. 98-103, 2000.

BERTECHINI, A.G. **Nutrição de monogástricos**. Lavras: Editora UFLA, 2.ed, p.179-18, 2006.

BIRGE, S.J.; HADDAD, J.G. 25-Hydroxycholecalciferol stimulation of muscle metabolism. **The Journal of Clinical Investigation**, v.56, p.1100-7, 1975.

BLEZINGER, S. B. Small vitamins imbalances can be critical. **Walden Farms- Cattle Today online**. June. 2001. Disponível em: <http://cattletoday.com/archive/2001/june/CT153shtml>. Acesso em: 20. Jan. 2020.

BONDI, A. A. **Nutricion animal**, Zaragoza: Acribia, 1.ed, p. 244-250, 1989

BONFIM, L. M. **Características de carcaça e da carne de animais zebuínos tratados com vitamina D3**. 2008. Tese (Doutorado em Zootecnia- Produção Animal), Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

CAMPBELL, M.K. **Bioquímica**. Porto Alegre: Artmed, p. 751, 2000.

CANTORNA, M.T.; MAHON, B. Mounting evidence for vitamin D as an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence. **Society for Experimental Biology and Medicine**, Maywood, v. 229, n. 11, p. 1136-42, 2004.

CARNAGEY, K. M.; HUFF-LONERGAN, E. J.; TRENKLE, A.; WERTZ-LUTZ, A. E.; HORST, R. L.; BEITZ, D. C. Use of 25-hydroxyvitamin D3 and a vitamin E to improve tenderness of beef from the *Longissimus dorsi* of heifers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 86. p. 1649-1657, 2008a.

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**, Albany, v. 86. p. 1637-1648, 2008b.

CASAS, E.; WHITE, S. N.; WHEELER, T. L.; SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M.; RILEY, D. G.; CHASE JR, C. C.; JOHNSON, D. D.; SMITH, T. P. L. Effects of calpastatin and micro-calpain markers in beef cattle on tenderness traits. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 3, p. 520-525, 2006.

CASTRO, L.C.G. O sistema endocrinológico vitamina D. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 55, p. 566-575, 2011.

CLARY, E.M.; BRANDT, R.T.; HARMON, D.L. et al. Supplemental fat and ionophores in finishing diets: feedlot performance and ruminal digest kinetics in steers. **Journal of Animal Science**, v.71, n.11, p.3115-23, 1993.

CERVIERI, R. C. Confinamento e produção de carne em escala. 2005. Disponível em: <https://www.beefpoint.com.br/confinamento-e-producao-de-carne-em-escala-26382/>. Acesso em: 18/02/2020.

CHO, Y.M.; CHOI, H.; HWANG, I.H.; KIM, Y.K.; MYUNG, K.H. Effects of 25-hydroxyvitamin D3 and manipulated dietary cation-anion difference on the tenderness of beef from cull native Korean cows. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 84, p. 1481-1488, 2006.

CHUNG, H.; DAVIS, M. PCR-RFLP of the ovine calpastatin gene and its association with growth. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 7, n. 8, p. 641-652, 2012.

COMBS, G. F. **The vitamins fundamental aspects in nutrition and health**. San Diego: Academic Press Inc, p. 528, 1992.

CROUSE, J. D.; CUNDIFF, L. V.; KOCH, R. M.; KOOHMARAIE, M.; SEIDEMAN, S. C. Comparisons of Bos indicus and Bos Taurus inheritance for carcass beef characteristics and meat palatability. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 67, n.10, p.2661-2668, 1989.

CSIRO. Vitamins. In: CSIRO. **Nutrient Requirements of Domesticated Ruminants**. Austrália: Csiro Publishing, Cap. 4. p. 173-185, 2007.

DIBARTOLA, S.P. **Anormalidades de fluidos, eletrólitos e equilíbrio ácido-básico na clínica de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2007.

DRANSFIELD, E. Modelling postmortem tenderization. V. Inactivation of calpains. **Meat Science**, Nebraska, v. 37 p. 391-406, 1994.

EDWARDS, H. M. The effect of dietary cholecalciferol, 25hydroxycholecalciferol and 1,25dihydroxycholecalciferol on the development of tibial dyschondroplasia in broiler chickens in the absence and presence of dissulfiram. **Journal of Nutrition**, n.119, p. 647-652, 1989.

ELLIS, M.; McKEITH, F.; SOSNICKI, A. Nutritional Influences on Pork Quality. Des Moines: American Meat Science Association, p. 345, 2000.

ENRIGHT, K.L.; ANDERSON, B.R.; ELLIS, M.; McKEITH, F.K.; BERGER, L.L.; BAKER, D.H. The effects of feeding high levels of vitamin D3 on pork quality. **Journal of Animal Science**, v. 76, suppl.1, p.149, 1998.

ENRIGHT, K.L.; MILLER, K.D.; BERGER, L.L.; McKEITH, F.K.; LYNCH, G.; ELLIS, M. Influence of level of vitamin E and level and time of feeding of vitamin D3 on growth, carcass, and pork quality characteristics in pigs. **Journal of Animal Science**, v. 78, suppl. 2, p. 49-50, 2000.

FELDMAN, D.; GLORIEUX, F. H.; PIKE, J. W. **Vitamin D**. San Diego: Academic Press, p. 1285, 1997.

FOOTE, M. R.; BEITZ, D. C.; HORST, R. L.; HUFF-LONERGAN, E. J.; TRENKLE, A. H.; PARRISH JR., F. C. Use of vitamin D3 and metabolites to improve beef tenderness. **Beef Research Report**, Ames: Iowa State University, p.133-137, 2001.

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

GAMAN, P. M.; SHERRINGTON, K. B. **Science of food**: an introduction to food science, nutrition and microbiology. 2 ed. Oxford: Pergamon Press, p. 258, 1981.

GARCIA, A.F.Q.M. 2012. Utilização de vitamina D e seus metabólitos na alimentação de frangos de corte. 59 pp. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual de Maringá. Maringá.

GARCION, E.; WION-BARBOT, N.; MONTERO-MENEI, C.N.; BERGER, F.; WION, D. New clues about vitamin D functions in the nervous system **Endocrinology & Metabolism**, v. 13, n. 3, p. 100-105, 2002.

GEESINK, G. H.; KOOHMARAIE, M. Effect of Calpastatin on Degradation of Myofibrillar Proteins by μ -Calpain Under Postmortem Conditions. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 2685-2692, 1999.

GEESINK, G. H., KUCHAY, S., CHISHTI, A. H.; KOOHMARAIE, M. Micro-calpain is essential for postmortem proteolysis of muscle proteins. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 10, p. 2834-2840, 2006.

GLERUP, H.; MIKKELSEN, K.; POULSEN, L. Hypovitaminosis D myopathy without biochemical signs of osteomalacic bone involvement. **Calcified Tissue International**, v.66, p.419-24, 2000.

GOLL, D. E.; THOMPSON, V. F.; LI, H.; WEI, W.; CONG, J. The calpain system. **Physiological Reviews**, v. 83, n. 3, p. 731-801, 2003.

GOMES, R. C. ANTUNES, M. T. SILVA, S. L. LEME, P. R. Desempenho e digestibilidade de novilhos zebuínos confinados recebendo leveduras vivas e monensina. **Archivos de Zootecnia**, v. 60, n. 232, p. 1077-1086. 2011.

GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELOS, J. O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L. A. O. Indicadores sanguíneos do metabolismo mineral em ruminantes. In: GONZÁLEZ, F. H. D. **Perfil**

Metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre, Brasil: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 31- 52, 2000.

GRÜDTNER, V. S.; WEINGRILL, P.; ERNANDES, A. L. Aspectos da absorção no metabolismo do cálcio e vitamina D. **Revista Brasileira de Reumatologia**. v. 37, n. 3. 1997.

HIDIROGLOU, M.; HO, S.K.; STANDISH, J.F. Effects of dietary manganese levels on reproductive performance of ewes and on tissue mineral composition of ewes and day-old lambs. **Journal of Animal Science**, Canadian, v.58, n.1, p.35-41, 1979.

HOLICK, M.F. Vitamin D. The underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health. **Current Opinion in Endocrinology & Diabetes**, v.9, p.87–98, 2002.

HOLICK, M.F.; GARABEDIAN, M. Vitamin D: photobiology, metabolism, mechanism of action, and clinical applications. In: Favus, M.J. **Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism**. 6. ed. Washington DC: The American Society for Bone and Mineral Research, p.106-114, 2006.

HOPKINS, D.L.; TAYLOR, R.G. Post- mortem muscle proteolysis and meat tenderness. In: TE PAS, M. W.; EVERTS, M. E.; HAAGSMAN, H. P (ed.) **Muscle Development of Livestock Animals – Physiology, Genetics and Meat Quality**. Cambridge: Cabi Publishing, v.1, p.363-388, 2004.

HORST, R. L., LITLEDIKE, E. T. Comparison of plasma concentrations of vitamin D and its metabolites in young and aged domestic animals. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 73b, p. 485, 1982.

HORST, R.L. **Vitamin Tolerance of Animals**. 1. ed. Washington: National Academy Press, 1987.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estatística da Produção Pecuária, 2018. https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2380/epp_2018_4tri.pdf. Acesso em: 29 nov. 2019.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal, 2008. http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1340&id_pagina=.1. Acesso em: 18/02/2020.

JONES, G.; STRUGNELL, S. A.; DeLUCA, H. F. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. **Physiological Reviews**, Baltimore, v. 78, n. 4, p. 1193-1231, 1998.

KABEYA, D.M. **Influência da suplementação com vitamina D3 e do sistema de resfriamento da carne bovina sobre as características físicas, químicas e sensoriais do contrafilé (músculo *Longissimus dorsi*)**. 2007. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

KARGES, K.; BROOKS, J.C.; GILL, D.R.; BREAZILE, J.E.; OWENS, F.N.; MORGAN, J.B. Effects of supplemental vitamin D₃ on feed intake, carcass characteristics, tenderness, and muscle properties of beef steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 79, n. 11, p. 2844-2850, 2001.

KEMP, C. M.; SENSKY, P. L.; BARDSLEY, R. G.; BUTTERY, P. J.; PARR, T. Tenderness - An enzymatic view. **Meat Science**, v. 84, n. 2, p. 248-256, 2010.

KENT, M. P.; SPENCER, M. J.; KOOHMARAIE, M. Postmortem proteolysis is reduced in transgenic mice overexpressing calpastatin. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 3, p. 794-801, 2004.

KILBURN J, EDWARDS HM. The response of broilers to the feeding of mash or pelleted diets containing maize of varying particle sizes. **British Poultry Science**, v. 42, n. 4, p. 484-492, 2001.

KOOHMARAIE, M.; SEIDEMAN, S.C.; SCHOLLMAYER, J.E. et al. Factors associated with the tenderness of three bovine muscles. **Journal of Food Science**, v.53, p.407-410, 1988.

KOOHMARAIE, M. Muscle proteinases and meat aging. **Meat Science**, v. 32: p. 93-104, 1994.

KOTRLA, L.A.; STANKO, R.L. TIPTON, N.C.; PASCHAL, J.C. Effect of vitamin D3 supplementation on carcass tenderness in Brahman- based cattle. **Journal of Animal Science**, Champaing. v. 79, n. 2, p. 9-10, 2001.

LI, Y.; ARNOLD, J. M.; PAMPILLO, M.; BABWAH, A. V.; PENG, T. Taurine prevents cardiomyocyte death by inhibiting NADPH oxidase-mediated calpain activation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 46, n. 1, p. 51-61, 2009.

LITTLEDIKE, E. T.; Horst, R. L. Vitamin D3 toxicity in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.65, p. 749, 1982.

LONERGAN, E. H.; ZHANG, W.; LONERGAN, S. M. Biochemistry of postmortem muscle - Lessons on mechanisms of meat tenderization. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 184-195, 2010.

LOPES, L. S. Diferença entre animais *Bos indicus* e *Bos taurus* e sua influência sobre a qualidade da carne. **PUBVET**, Ed. 123, Londrina, v. 4, n. 18, Art. 833, 2010.

MARSH, B.B.; RINGKOB, T.P. RUSSELL, R.L.; SWARTZ, D.R.; PAGAL, L.A. Effects of early-postmortem glycolytic rate on beef tenderness. **Meat Science**, Barkng, v. 21, p. 241-228, 1987.

MARTIN, L. C. T. **Nutrição mineral de bovinos de corte**, Livraria Nobel, São Paulo, 1993.

MAZZUCO, H. **Integridade óssea em poedeiras comerciais**: influência de dietas enriquecidas com ácidos graxos poliinsaturados e tipo de muda induzida. Concórdia-SC: Embrapa Aves e Suínos, 2006.

MILLEN, D. D.; PACHECO, R. D. L.; ARRIGONI, M. D. B.; GALYEAN, M. L.; VASCONCELOS, J. T. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. **Journal of Animal Science**, v.87, p.3427-3439, 2009.

MCDOWELL, L. R. **Vitamins in animal nutrition**. San Diego: Academic Press Inc., p. 486, 1989.

MCDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. San Diego: Academic Press Inc., p. 33-92, 1992.

MOISE, A.F.; BUTTNER, P.G.; HARRISON, S.L. Sun exposure at school. **Photochemistry and Photobiology**, Oxford, v. 70, n. 2, p. 269-274, 1999.

MORGAN, J.B.; DOLEZALL, H.G.; GILL, D.R. Vitamin D supplementation improves beef tenderness. Nebraska. **Veterinary and Biomedical Sciences Newsletter**, v. 28, n. 10, p. 4, October 1999. Acesso em: 17 fev/2019

MONTGOMERY, J.L.; HORST, R.L.; HOY, D.A.; CARR, M.A.; HILTON, G.G.; PRICE, B.D.; MILLER, M.F. Effects of dietary modifications using vitamin D₃ on calcium content and vitamin D residues in tissue and liver. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 173, 1999, Suppl. 1.

MONTGOMERY, J. L.; PARRISH JR, F. C.; BEITZ, D. C.; HORST, R. L.; HUFFLONERGAN, E. J.; TRENKLE, A. H. The use of vitamin D₃ to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v.78, n.10, p.2615-2621, 2000.

MONTGOMERY, J.L.; MILLER, M.F.; BLANTON JR, J. R.; HORST, R. L. Using vitamin D₃ to improve beef tenderness in three different breed types. **Texas: Tech University**, p. 25, 2001.

MONTGOMERY, J. L.; CARR, M. A.; KERTH, C. R.; HILTON, G. G.; PRINCE, B. P.; GALYEAN, M. L.; HORST, R. L.; MILLER, M. F. Effect of vitamin D₃ supplementation level on the postmortem tenderization of beef from steers. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 4, p. 971-981, 2002.

MONTGOMERY, J. L.; GALYEAN, M. L.; HORST, R. L.; MORROW JR, K. J.; BLANTON JR, J. R.; WESTER, D. B.; MILLER, M. F. Supplemental vitamin D₃ concentration and biological type of steers. I. Feedlot performance and carcass traits. **Journal of Animal Science**, v.82, p.2050-2058, 2004a.

MONTGOMERY, J. L.; KING, M. B.; GENTRY, J. G.; BARHAM, A. R.; BARHAM, B. L.; HILTONS, G. G.; BLANTON JR, J. R.; HORST, R. L.; GALYEAN. M. L.; MORROW JR, K. J.; WESTER, D. B.; MILLER, M. F. Supplemental vitamin D₃ concentration and biological type of steers. II. Tenderness, quality, and residues of beef. **Journal of Animal Science**, v.82, p.2092-2104, 2004b.

MONTGOMERY, J. L.; BLANTON JR, J. R.; HORST, R. L.; GALYEAN, M. L.; MORROW JR, K. J.; ALLEN, V. G.; WESTER, D. B.; MILLER, M. F. Effect of supplemental vitamin D₃ concentrations of calcium, phosphorus, and magnesium relative to protein in subcellular components of the longissimus and the distribution of calcium within longissimus muscle of beef steers. **Journal of Animal Science**, v.82, p.2742-2749, 2004d.

NETI, G. NOVAK, S. M.; THOMPSON, V. F.; GOLL, D. E. Properties of easily releasable myofilaments: are they the first step in myofibrillar protein turnover. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 296, n. 6, p. 1383-1390, 2009.

NRC. "Mineral Tolerance of Domestic Animals." National Academy of Sciences-National Research Council, Washington, D.C, 1980.

NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 7ed. Washington, D.C: National Academy Press, 1996.

NRC .National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 8ed. Washington, DC: National Academies Press, 2016.

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**, v. 197, p. 64–75, 2014.

OLIVO, R.; OLIVO, N. **O mundo das carnes: ciência, tecnologia & mercado**. Criciúma: Editor Varela , p. 214, 2005.

PEDREIRA, A. C. M. S.; LUCHIARI FILHO, A.; LEITE, V. B. O.; CARVALHO, M.H. Quality characteristics of *Longissimus dorsi* muscle from *Bos indicus* animals treated with vitamin D3. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 60, n. 4, p. 637-642, 2003.

PERRY, T.W.; BEESON, W. M.; MOHLER, M. T. Effect of monensin on beef cattle performance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 42, n. 3, p.761- 765, 1976.

PIKE, M. M.; RINGKOB, T. P.; BEEKMAN, D. D.; KOH, Y. O.; GERTHOFFER, W. T. Quadratic relationship between early post-mortem glycolytic rate and beef tenderness. **Meat science**, v. 34, p. 13-26, 1993.

PÓŁTORAK, A.; MOCZKOWSKA, M.; WYRWISZ, J.; WIERZBICKA, A. Beef Tenderness Improvement by Dietary Vitamin D₃ Supplementation in the Last Stage of Fattening of Cattle. **Journal of Veterinary Research**. v. 61, n. 1, p. 59–67, 2017.

PRODUÇÃO DE CARNE BOVINA NO BRASIL. **Anualpec 2017**: Anuário da pecuária brasileira, São Paulo, p. 44, 2016

PROWEDINI, D.M.; TSOUKAS, C.D.; DEFTOS, L.J.; MANOLAGAS, S.C. 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in human leukocytes. **Science**. v. 16, n. 221, p. 1181–1183, 1983.

RAJASREE, S.; UMASHANKAR, P. R.; LAL, A. V.; SARMA, P. S. et al. 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor is up-regulated in aortic smooth muscle cells during hypervitaminosis D. **Life Science**, Amsterdam, v. 70, p. 1777-1788, 2002.

RAO, S.V.R.; Raju, M.V.L.N.; PANDA, A.K.; SUNDER, G.S. AND SHARMA, R.P. Effect of high concentrations of cholecalciferol on growth, bone mineralization, and mineral retention in broiler chicks fed suboptimal concentrations of calcium and nonphytate phosphorus. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 15, p. 493-501. 2006.

REILING, B. A.; JOHNSON, D. D. Effects of implant regimens (tenbolone acetate estradiol administered alone or in combination with zeranol) and vitamin D3 on fresh beef color and quality. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 81, p. 135-142, 2003.

REZENDE, L. R. **Expressão de genes relacionados ao metabolismo de vitamina D3 mediante suplementação e estudo de associação com a maciez da carne em bovinos da**

raça Nelore. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências- Ciência Animal e Pastagens), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

REZENDE, L.R.; DELGADO, E.F.; JÚNIOR, A. R. L. Expression of *1alpha-HYD* and *24-HYD* in bovine kidney mediated by vitamin D₃ supplementation. **Genetics and Molecular Research**. ed. 12. v. 4. p. 6611-6618. 2013.

RIGOBELLO, E. C.; PEREIRA, M. C. S.; VICARI, D. V. F.; MILLEN, D. D. **Utilização de probiótico e monensina sódica sobre o desempenho produtivo e características de carcaça de bovinos Nelore terminados em confinamento.** Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal. Salvador, v. 15, n. 2, 2014.

RIGUEIRO, A. L. N. **Uso de monensina sódica e para reduzir o tempo de adaptação e aumentar o peso de carcaça quente de bovinos Nelore confinados.** 2019. Tese (Doutorado em Zootecnia), - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2019.

ROBERT, K. M; PETER, A. M.; DARYL, K. G. **Harper bioquímica.** 9. ed. São Paulo: Ateneu, 2002.

RUBENSAM, J.M.; FELÍCIO, P.E.; TERMIGNONI, C. Influência do genótipo *Bos indicus* na atividade de calpastatina na textura da carne de novilhos abatidos no sul do Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.18, n. 4, p. 405-409, 1998.

RUSSEL, J.B.; STROBEL, H.J. Effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 55, n. 1, p.1-6, 1989.

SCANGA, J.A. BELK, K.E.; TATUM, J.D.; SMITH, G.C. Supranutritional oral supplementation with vitamin D₃ and calcium and the effects on beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 4, p. 912-198, 2001.

SELL, N. R; MIKEL, W. B.; XIONG; Y. L; BEHREND, J. M. Vitamin D₃ supplementation of cull cows: Effects on *Longissimus* and *Semitendinosus* muscle tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 82, p. 225-230, 2004.

SILVA, P. F. D. **Revisão bibliográfica das técnicas laboratoriais de melhoramento genético de bovinos de corte no Brasil**, Monografia (Bacharelado em Biomedicina), Faculdade São Lucas, Porto Velho, 2016.

SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M.; MILLER, M.F.; CROUSE, J.D.; REAGAN, J.O. An evaluation of tenderness of the *Longissimus* muscle of Angus by Hereford versus Brahman crossbred heifers. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 171- 177, 1991.

SHACKELFORD, S.D.; KOOHMARAIE, M.; CUNDIFF, L.V. Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine post rigor calpastatin activity, intramuscular fat content, Warner- Brastzler shear force, retail product yield, and growth rate. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 4, p. 857- 863, 1994.

SWANEK, S.S.; MORGAN, J. B.; OWENS, F. N.; GILL, D. R.; STRASIA, C. A.; DOLEZAL, H. G.; RAY, F. K. Vitamin D₃ supplementation of beef steers increases

longissimus tenderness. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, n. 4, p. 874-881, 1999.

SWANEK, S.S.; ELAM, N.A.; MORGAN, J.B.; OWENS, F.N.; GILL, D.R.; STRASIA, C.A.; DOLEZAL, H.G.; RAY, F.K. Supplemental vitamin D3 and beef tenderness. 1999. **Animal Science Research Report**, Oklahoma State University, p.59-66, 1999.

SOMMERFELDT, J.L.; HORST, R.L.; LITTLEDIKE, E.T.; BEITZ, D.C. In vitro degradation of cholecalciferol in rumen fluids. **Journal of Dairy Science**, v. 62, Suppl. 1, p. 192-193, 1979.

SOUZA, C.S.; VIEITES F.M. **Vitamina D3 e seus metabólitos para frangos de corte**. Archivos de zootecnia. v. 63, p. 11-24, 2014.

SOUZA, S.C. **Suplemento de 1,25 dihidroxicolecalciferol e redução de cálcio e fósforo disponível para frangos de corte**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciência animal), Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2012.

SPEARS, J. W. Reevaluation of the metabolic essentiality of the minerals. Review. Asian-Aus. **Journal of Animal Science**, 12, p. 1002-1008, 1999.

STAN, F.J.G; BOULART, I.; HOENDEROP, J.G.J.; BINDELS, M.J.R. Regulation of epithelial Ca channels TRPV 5 and TRPV 6 by 1 α 25-dihydroxy vitamin D3 and dietary Ca. **The journal of steroid biochemistry and molecular biology**, Amsterdam. v. 89-90, p. 303-308, 2003.

SWANEK, S. S.; ELAM, N. A.; MORGAN, J. B.; OWENS, F. N.; GILL, D. R.;STRASIA, C. A.; DOLEZAL, H. G.; RAY, F. K. Supplemental vitamin D3 and beeftenderness. **Journal of Animal Science**, v.77, suppl.1, p.172, 1999.

TIPTON, N .C.; KING, D. A.; PASCHAL, J. C.; HALE, D. S.; SAVELL, J. W. Effects of oral vitamin D3 supplementation and supplement withdrawal on the accumulation of magnesium, calcium, and vitamin D in the serum, liver, and muscle tissue and subsequent carcass and meat quality of *Bos indicus* influenced cattle. **Meat Science**, Barking, v. 75, p. 150-158, 2007.

VARGAS, D.N.; DOWN, A.E.; WEBB, D.S.; HAN, H.; MORGAN, J.B.; DOLEZAL, H.G. Effects of dietary supplementation of feedlot steers with vitamins E and D3 on live performance, carcass traits, shelf-life attributes and longissimus muscle tenderness. **Animal Science Research Report**, Oklahoma State University, p.59-66, 1999a.

VARGAS, D.N.; DOWN, A.; WEBB, D.S.; HAN, H.; MORGAN, J.B.; DOLEZAL, H.G. Effect of supplementing feedlot steers with vitamin D3 and E on carcass traits, shelf-life attributes and longissimus muscle tenderness. **Journal of Animal Science**, v.77, suppl. 1, p.172, 1999b.

VARRICCHIO, E.; RUSSOLILLO, M. G.; MARUCCIO, L.; VELOTTO, S.; CAMPANILE, G.; PAOLUCCI, M.; RUSSO, F. Immunological detection of m-and μ -calpains in the skeletal muscle of Marchigiana cattle. **European Journal of Histochemistry**, v. 57, n. 1, p. 10-15, 2013.

WEISS, W. P. Requirements of fat-soluble vitamins for dairy cows: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 9, p. 2493-2501, 1998.

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

WHIPPLE, G.; KOOHMARAIE, M.; DIKEMAN, M.E.; CROUSE, J. D.; HUNT, M.C.; KLEMM, R.D. Evaluation of attributes that affect *Longissimus muscle* tenderness in *Bos Taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v.68, p. 2716-2728, 1990.

WHIPPLE, G.; KOOHMARAIE, M. Calcium chorine marination effects on beefsteak tenderness and calpain proteolytic activity. **Meat science**, Barking. v. 33, p. 265-269, 1993.

WHITNEY, E., ROLFES, S.R., **Nutrição, entendendo os nutrientes**. Cengage Learning, São Paulo, p. 342, 2008.

ZEITZ, U.; WEBER, K.; SOEGIARTO, D.W.; WOLF, E.; BALLING, R.; ERBEN, R.G. Impaired insulin secretory capacity in mice lacking a functional vitamin D receptor. **FASEB J**, v. 17, n. 3, p. 509-11, 2003.

ZEOULA, L. M.; GERON, L. J.V. Vitamins. In: BERCHIELLI, T. T. PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. 1. ed. Jaboticabal, SP: Funep, p. 355- 395, 2006.

CAPÍTULO 2

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE 25-HIDROXI-VITAMINA D₃ NA DIETA DE BOVINOS DE CORTE CONFINADOS

RESUMO: O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência da suplementação de 25-hidroxicolecalciferol no desempenho produtivo, características de carcaça, qualidade da carne e na expressão de genes relacionados ao anabolismo e ao catabolismo do músculo esquelético de bovinos de categoria Nelore confinados. Cento e vinte machos, com peso inicial médio de 370 ± 20 kg provindos de pastagem contínua, foram divididos em três tratamentos de acordo com a quantidade suplementada ou não a dieta durante o período experimental: T1 - tratamento controle sem inclusão de 25-hidroxicolecalciferol; T2 - dieta + 1mg/cab/dia de 25-hidroxicolecalciferol; T3 - dieta + 3mg/cab/dia de 25-hidroxicolecalciferol, delineados em blocos casualizados (40 animais por tratamento, 5 animais por baia e 8 baias por tratamento, sendo as baias as unidades experimentais). A duração do experimento foi de 96 dias, sendo 15 dias de adaptação, divididos em dois períodos (7 e 8 dias) de dietas com níveis crescentes de concentrado (76% e 81%), respectivamente; 28 dias de crescimento e a partir desse período foram fornecidas as dietas de terminação durante 53 dias com 91% de concentrado. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o procedimento PROC MIXED do software SAS (2003) e o teste de Tukey para comparação entre as médias, considerando significativos valores de $p \leq 0,05$. No período total do confinamento, a suplementação com 1 mg aumentou o rendimento de carcaça dos animais e os resultados de pH da carne mostrou um aumento linear entre os tratamentos. Além disso, para as variáveis de 25(OH)D₃ sanguíneo, iCa e Ca muscular os resultados foram maiores para o tratamento com 3 mg, com interação tratamento e fase para 25(OH)D₃ sanguíneo e iCa ($p=0,04$), houve ainda um aumento em Ca sanguíneo para o tratamento com 1 mg. Na gasometria, para T°C o resultado foi maior no tratamento com 3 mg e menor para pH. Para as variáveis de glicose e lactato, ambas aumentaram conforme os tratamentos. O pH da carne foi maior para o tratamento com 3 mg, e para a composição física o tecido adiposo diminuiu quando comparado o controle com os tratamentos suplementados. Não houve diferença significativa para expressão gênica da carne. Desta maneira, a suplementação de 1 mg de 25-hidroxicolecalciferol mostrou resultados significativos no rendimento de carcaça, cálcio sanguíneo, cálcio muscular e pH da carne. Entretanto, são necessários estudos complementares que analisem a relevância dos níveis dos efeitos dessa suplementação com um aprofundamento abrangente em bovinos confinados.

Palavras chave: bovinos, carcaça, carne, confinamento.

EFFECTS OF THE SUPPLEMENTATION OF 25-HYDROXI-VITAMIN D₃ ON THE FEEDLOT CATTLE DIET

ABSTRACT: The objective of the present study was to evaluate the efficiency of 25-hydroxycholecalciferol supplementation in productive performance, carcass characteristics, meat quality and expression of genes related to anabolism and catabolism of skeletal muscle in Nellore cattle. One hundred and twenty male from continuous pasture, with an average initial weight of 370 kg $\pm$ 20 kg, divided into three treatments: T1: control treatment without the inclusion of 25-hydroxycholecalciferol, T2: diet + inclusion of 1 mg / cab / day of 25-hydroxycholecalciferol and T3: diet + inclusion of 3 mg / cab / day of 25-hydroxycholecalciferol, outlined in randomized blocks (40 animals per treatment, 5 animals per pen and 8 pens per treatment, the pens being the experimental units). The duration of the experiment was 96 days, with 15 days of adaptation, divided into two periods (7 and 8 days) of diets with increasing levels of concentrate (76% and 81%), respectively; 28 days of growth and after that period the termination diets were provided for 53 days with 91% concentrate. The selected data will be used in the analysis of variance using the PROC MIXED procedure of SAS software (2003) and Tukey test for comparison between media, considering P values $\leq$ 0.05. In the total feedlot period, supplementation with 1 mg increase carcass yield and meat pH results showed a linear increase between treatments. In addition, for the variables of blood 25 (OH) D₃, iCa and muscle Ca the results were higher for the treatment with 3 mg, with treatment and phase interaction for blood 25 (OH) D₃ and iCa (p = 0.04), there was also an increase in blood Ca for the 1 mg treatment. In gas analysis, for T ° C the result was higher in the treatment with 3 mg and lower for pH. For the glucose and lactate variables, both increased according to the treatments. The pH of the meat was higher for the treatment with 3 mg, and for the physical composition, the adipose tissue decreased when compared to the control with the supplemented treatments. There was no significant difference for gene expression of meat. Thus, supplementation of 1 mg of 25-hydroxycholecalciferol showed significant results in carcass yield, blood calcium, muscle calcium and meat pH. However, further studies are needed to analyze the relevance of the levels of the effects of this supplementation with a comprehensive deepening in feedlot cattle.

Key words: cattle, carcass, feedlot, meat.

1. INTRODUÇÃO

A crescente busca de novas tecnologias e alternativas para maximizar e melhorar a qualidade da produção de carne no Brasil é consequência do progressivo aumento das exportações e da população mundial, onde se faz necessária a ampliação da produção de alimentos, além da crescente procura de carne da melhor qualidade por parte dos consumidores. O aumento do sistema de criação de bovinos confinados no país (IBGE, 2019), o melhoramento genético e a utilização da suplementação com aditivos alimentares nas dietas são alternativas que melhoram a produção de carne. De acordo com Millen et al. (2009) a Monensina Sódica é o principal aditivo alimentar utilizado nos confinamentos brasileiros.

Entretanto, a busca de alternativas inovadoras além dos ionóforos pode levar a descoberta de novas técnicas relacionados ao metabolismo e fisiologia de bovinos, melhorando os processos de fermentação ruminal com a eficiência semelhante ao dos ionóforos, sem trazer riscos para a saúde humana (DILORENZO, 2004).

O uso da vitamina D para animais de produção está associado ao controle de calcemia e ao combate ao raquitismo. Descobertas de que possíveis tecidos do organismo animal apresentem receptores de vitamina D, convertendo a forma calcidiol em sua forma ativa calcitriol (PROWEDINI, 1983) deram maior ênfase em suas funções não esqueléticas e como seria a ativação sistêmica para estes receptores de vitamina D (HOLICK, 2002). Desse modo, iniciaram-se pesquisas relacionando a vitamina D com outras funções no organismo como: participação no sistema imune (CANTORNA e MAHON, 2004), sistema nervoso (GARCION, et al, 2002), produção de insulina (ZEITZ, et al, 2003), entre outros.

As vitaminas D₂ e D₃ não são biologicamente ativas, sendo convertidas através do plasma à forma ativa por duas reações sequenciais de hidroxilação. O metabólito 25-hidroxicolecalciferol é resultado da primeira hidroxilação no fígado e é posteriormente hidroxilado resultando na formação de 1,25-dihidroxicolecalciferol no rim, metabólito mais potente da vitamina D.

Pesquisas revelam que a suplementação com vitamina D₃ em bovinos, tem resultados satisfatórios com relação à maciez da carne e papel importante na mobilização do cálcio (KARGES et al., 2001; KOTRLA et al., 2001; PEDREIRA, 2003), sendo uma alternativa para a produção de carne de melhor qualidade. Além disso, a utilização de seus metabólitos, 25-hidroxicolecalciferol e 1,25- dihidroxicolecalciferol vem mostrando resultados satisfatórios em animais de produção, relacionados a parâmetros de

desempenho, hipocalcemia em vacas de leite, características de carcaça, entre outros (ARAUJO et al., 2019; BELLA, 2018; BARROS, 2010; OEHLSCHLAEGER et al., 2014; CARNAGEY et al., 2008ab), produzindo novas pesquisas e inovando a suplementação em dietas.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência da suplementação de 25-hidroxicolecalciferol no desempenho produtivo, características de carcaça, qualidade da carne e na expressão de genes relacionados ao anabolismo e ao catabolismo do músculo esquelético de bovinos, categoria Nelore, confinados.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Animais e Local Experimental

O estudo foi realizado na UNESP - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu- SP, no confinamento do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu (Protocolo 0067/2017). Foram utilizados 120 bovinos machos categoria Nelore, com peso vivo médio inicial de $370\text{kg} \pm 20\text{ kg}$ provenientes de recria em sistema de pastejo contínuo.

2.2. Delineamento Experimental

O delineamento experimental foi em blocos inteiramente casualizados, divididos em três tratamentos, sendo 40 animais por tratamento, considerados o peso inicial dos animais para a formação dos blocos. Os tratamentos foram distribuídos da seguinte forma: T1 - tratamento controle sem inclusão de 25-hidroxicolecalciferol; T2 - dieta + 1mg/cab/dia de 25-hidroxicolecalciferol; T3 - dieta + 3mg/cab/dia de 25-hidroxicolecalciferol.

2.3. Manejo, Arraçoamento e Cuidados com os Animais

Após a chegada ao confinamento experimental, os animais foram pesados, tratados com anti-helmínticos e vacinados conforme calendário profilático anual. Os animais foram submetidos a um período de pré-adaptação de 10 dias, com baias de chão batido, descobertas e com bebedouros do tipo australiano, com o objetivo de uniformizar a população ruminal. Após este período, os animais foram pesados e blocados de acordo

com o peso, divididos em 24 baias cobertas, em piso de concreto com uma lotação de cinco animais por baia (5,4m² por animal e 0,84m de cocho por animal), totalizando 8 baias por tratamento, sendo consideradas as unidades experimentais. As dietas foram formuladas segundo o sistema LRNS (Nível 2, Large Ruminant Nutrition System, Fox *et al.* 2004), atendendo as exigências nutricionais e apresentaram em sua composição, bagaço de cana-de-açúcar, milho moído, torta de algodão, polpa cítrica peletizada, farelo de soja, sal mineral e uréia (Tabela 1). Os animais passaram por três fases durante o período experimental: adaptação (ADAP), crescimento (CRESC), terminação (TERM). Além disso, foram feitos ajustes na quantidade dos ingredientes nos períodos de Term 1 e Term 2, respectivamente (Tabela 1), após questões de manejo e logística das máquinas utilizadas durante o período experimental. A ração foi fornecida *ad libitum* duas vezes ao dia (8:00h e 15:00h) com acesso livre à água em bebedouros automáticos tipo concha. Após a bloqueio, os animais foram submetidos a um período de adaptação em forma de escada (step up) durante 15 dias, com o fornecimento de dietas com níveis crescentes de concentrado (76% e 81%). Durante 28 dias os animais receberam a dieta de crescimento e a partir desse período foram fornecidas as dietas de terminação durante 53 dias com 91% de concentrado, totalizando 96 dias de experimento. Ao longo do período experimental, as dietas foram submetidas à análise bromatológica de MS, PB, EE, e MM segundo AOAC (1990) e FDN segundo Van Soest et al (1991). Ao final do experimento, os bovinos foram abatidos em frigorífico comercial com Inspeção Federal, onde foram coletados dados referentes aos pesos das carcaças quentes, rendimento de carcaça (RC), amostras de carne para determinação de cálcio muscular e expressão gênica. Após o resfriamento foram coletadas amostras para avaliação da qualidade de carne e composição física da carcaça.

Tabela 1. Composição e conteúdo nutricional das dietas fornecidas aos animais durante o período experimental.

	Adap1	Adap2	Cresc	Term1	Term2
Número de dias	7	8	28	22	31
<i>Composição</i>					
Bagaço de cana-de-açúcar	24,00	19,00	14,00	9,00	13,00
Milho moído	28,25	36,00	43,83	52,19	51,50
Polpa cítrica	18,75	17,20	15,00	15,00	14,50
Farelo de Soja	12,25	9,80	4,50	3,91	5,00
Torta de algodão	12,75	14,00	18,68	15,91	12,00
Mineral e 25(OH)D ₃ +ureia ¹	4,00	4,00	4,00	4,00	4,00
<i>Conteúdo nutricional²</i>					
Matéria seca (%MS)	73,0	76,0	79,0	82,0	79,0
Nutrientes digestíveis totais (%MS)	69,0	71,0	73,0	75,0	74,0
Proteína bruta, (%)	16,1	15,8	15,0	14,5	13,4
Fibra em detergente neutro (%MS)	34,9	31,5	29,0	24,5	26,1
FDN fisicamente efetivo ³	14,0	13,0	12,0	11,0	12,0
EgL, (Mcal/kg MS) ⁴	0,99	1,04	1,10	1,17	1,15
Total CNF, (%) ⁵	39,0	43,0	46,0	51,0	50,0

Nota:¹Mineral fornecido pela DSM- NNP: 700,00 g/kg; Cáa (min): 110,00 g/kg; Ca (max): 130,00 g/kg; P (min): 12,00 g/kg; K (min): 25,00 g/kg; S (min): 27,00 g/kg; Mg (min): 5,00 g/kg; Na (min): 42,00 g/kg; Co (min): 6,00 mg/kg; Cu (min): 400,00 mg/kg; Cr (min): 5,00 mg/kg; I (min): 20,00 mg/kg; Mn (min): 800,00 mg/kg; Se (min): 5,00 mg/kg; Zin (min): 1.500,00 mg/kg; Vit A (min): 125.000,00 UI/kg; VitD3 (min.): 12.500,00 UI/ kg; Vit E (min): 1.300,00 UI/kg; Biotina (min): 67,00 mg/kg; Amilase 8.400,00 KNU/kg; D-Limonene 855,00 mg/kg; Saccharomyces cerevisiae: 2x10E9 UFC/kg; Flúor (máx): 120,00 mg/kg ²Conteúdo nutricional em porcentagem da matéria seca estimado pelo LRNS; ³FDN fisicamente efetivo, ⁴Energia líquida de ganho; ⁵Total de Carboidratos não fibrosos.

3. PARÂMETROS AVALIADOS

3.1. Desempenho produtivo

No início e final do período experimental todos os animais foram pesados, com jejum, sendo descontados 4% do peso vivo para se obter o peso vivo vazio. Dessa forma, foi calculado ao final do experimento o ganho de peso diário dos animais utilizando-se os pesos obtidos nas pesagens iniciais e finais (BAKER E GUILBERT, 1942).

3.1.1. Flutuação da ingestão de matéria seca

$$\text{Flutuação da IMS (\%)} = (IMS D - IMS D A / IMS D A) * 100$$

A avaliação da flutuação na ingestão de massa seca foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Bevans et al. (2005), a partir dos dados de ingestão de massa seca diário foram calculadas as diferenças na ingestão de massa seca entre dois dias consecutivos, durante o período experimental, em que: IMS = Ingestão de matéria seca (kg); IMSD = Ingestão de matéria seca do dia (kg); IMSDA = Ingestão de matéria seca do dia anterior (kg).

3.2. Avaliação do Cálcio Plasmático de Bovinos

Os animais foram conduzidos até o curral de manejo e imobilizados em brete de contenção para realização das coletas de sangue que foram realizadas em até três horas após o trato da manhã (Brossard et al., 2003), dessa maneira, foram coletadas amostras de sangue na veia jugular de um animal por baia, em seringas de 2 mililitros com heparina sódica como anticoagulante, para a avaliação foi necessária a aferição da temperatura retal. Para os parâmetros de pH, bicarbonato (HCO_3), pressão parcial sanguínea total (TCO_2), excesso de bases no fluido extracelular (Beecf), lactato e glicose utilizou-se o analisador portátil STAT® 1 (Abbott I-Stat Point of Care) com o cartucho i-STAT CG4+® onde era colocada a amostra de sangue e inserido no analisador, obtendo resultados cerca de 4 minutos depois. O pH foi calculado através de equipamentos, e o TCO_2 e Beecf foram calculados de acordo com as equações do NCCLS (1991). Para a análise do cálcio sanguíneo das amostras, foram utilizados os kits Biocontrol N e P Bioclin e dessa maneira, foi utilizado Heparina nos tubos de coleta.

A metodologia utilizada para a determinação foi à análise colorimétrica do ponto final - Arsenazo III. O cálcio reage com Arsezan III em meio ácido para formar o complexo de coloração azul, cuja intensidade é proporcional à concentração de cálcio na amostra. A absorbância do produto deve ser medida em comprimentos de onda entre 600 e 680 nm, após essa etapa, houve a homogeneização e incubação em tubos de ensaio, realizados por dois minutos a 37° C. Após esse período, a absorbância do padrão e da amostra contra o branco do reagente foi lida.

Tabela 2. Valores de referência dos gases e metabólitos do sangue venoso de bovinos.

pH	7.35 - 7.50
pCO ₂ (mm/ Hg)	35 – 44
Bicarbonato (mmol/ L)	20 – 30
Total CO ₂ (mmol/ L)	24 – 29

*Não há padrão de referência no sangue venoso de bovinos Carlson (1997).

3.3. Padrão de crescimento muscular e adiposo de bovinos

Os bovinos foram submetidos no início e final do período experimental à avaliação da deposição dos tecidos adiposo e muscular, por meio de ultrassom, a fim de verificar o desenvolvimento do tecido adiposo subcutâneo (EGS) e a área de olho de lombo (AOL) no músculo *Longissimus dorsi* entre as 12^a e 13^a costelas, e o desenvolvimento do tecido adiposo da garupa (P8) no músculo *Bíceps femoris*, seguindo metodologia descrita por Perkins (1992), para alcançar os requerimentos mínimos de gordura de cobertura do mercado brasileiro. As avaliações foram realizadas segundo as normas internacionais da UGC (Ultrasound Guidelines Council, 2014), utilizando-se ultrassom veterinário “ALOKA 500 V”, com sonda de 17,2cm/3,50 MHz e óleo vegetal como acoplante acústico. As imagens foram colhidas por meio do software “BIA PRO PLUS” e analisadas no Laboratório de Imagens da Designer Genes Technologies Brasil, por técnicos certificados pela “UGC”. As medidas avaliadas foram AOL inicial, AOL final, EGS inicial, EGS final, ganho diário de EGS, espessura de gordura na P8 inicial, espessura de gordura na P8 final, ganho diário de gordura na P8.

3.4. Determinação de Cálcio no Tecido Muscular de Bovinos

As determinações de cálcio nas amostras de tecido muscular bovino foram feitas após mineralização em forno de micro-ondas. Para isso, aproximadamente 100 mg de amostras, moídas criogenicamente, foram transferidas diretamente para frascos de teflon

do forno de micro-ondas e posteriormente foram adicionados 2,5mL de ácido nítrico (14mol L⁻¹) mais 0,50mL de peróxido de hidrogênio (30% m/m). Em seguida a mistura foi submetida ao programa de aquecimento proposto no manual do equipamento. Os extratos ácidos obtidos foram transferidos para balões volumétricos de 25 ml e os volumes completados com água ultrapura. Para determinação do cálcio foi utilizado espectrômetro de absorção atômica SHIMADSU (modelo AA-6800), equipado com corretor de absorção de fundo com lâmpada de deutério e sistema self-reverse. As leituras de absorbância foram feitas pelo módulo de chama (FAAS), utilizando-se acetileno como gás combustível e ar como gás oxidante, com fluxo constante 2L min⁻¹.

3.5. Avaliação da qualidade de carne

Para as análises de qualidade de carne as amostras foram retiradas na medida de 2,54 cm do músculo *Longissimus thoracis*, entre a 11° e 13° costelas, embaladas e congeladas a vácuo para posteriores análises no laboratório. As análises foram realizadas no Laboratório de Tecnologia dos Produtos de Origem Animal do Departamento de Economia, Sociologia e Tecnologia- Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP- Botucatu.

Força de cisalhamento (FC): Para a análise de força de cisalhamento (FC) foram utilizadas amostras de 2,54 cm de espessura do músculo *Longissimus thoracis*, obtidas a partir da 12^a costela das meias carcaças de todos os animais, identificadas e congeladas, embaladas a vácuo.

No momento da realização das análises as amostras foram descongeladas e desembaladas para pesagem da “Purga”, foi inserido um termômetro no centro geométrico de cada amostra e as mesmas foram colocadas no forno tipo *grill* a 170° C, até atingirem temperatura interna de 40° C, após essa etapa, as amostras foram viradas até atingir a temperatura interna de 71° C, conforme recomendado pela *American Meat Science Association* (AMSA, 1995). As amostras foram pesadas, envolvidas em filme plástico e colocadas em geladeira (4-6° C) até o dia seguinte, foram retirados 6 a 8 cilindros (1,27 cm de diâmetro) de cada amostra, no sentido paralelo das fibras. Em seguida, foi utilizado equipamento de cisalhamento com sonda tipo *Warner Bratzler Force*. A força de cisalhamento de cada amostra foi considerada como a média das 6 a 8 repetições (WHEELER et al, 1997).

Avaliação das perdas por cocção: Para análise de perdas por cocção, as amostras do músculo *Longissimus thoracis* foram identificadas, pesadas em balança de precisão e submetidas à cocção em forno elétrico de dupla resistência até atingir temperatura de 71°

C. Após resfriamento à temperatura ambiente, as amostras foram novamente pesadas e, por meio da diferença dos pesos inicial e final, foi calculada a perda de peso por cocção utilizando metodologia descrita por Honikel (1998).

Cor da carne: Para a determinação objetiva da cor da carne, as amostras foram refrigeradas de 5 a 7°C por 20 minutos para determinar a cor objetiva pelo sistema CIELAB (CIE, 1986). A medição da cor foi realizada em três pontos diferentes da amostra, utilizando um colorímetro modelo Cm2500d (Konica Minolta Brasil, São Paulo, Brasil), com iluminante padrão D65, ângulo de observação de 10° e abertura de 30 mm. Os valores das cores foram considerados como a média das três leituras.

Determinação do pH da carne bovina: O pH das amostras descongeladas foi medido com auxílio de um peagâmetro (Hanna Instruments, Woonsocket, RI, EUA).

Composição física da carcaça (seção HH)

Para determinar a composição física da carcaça, foram coletadas amostras de 20 animais correspondentes à seção da 9ª a 11ª costela do lado esquerdo da carcaça do músculo *Longissimus Dorsi*, após 48 horas de abate. As amostras foram submetidas à separação física e pesagem de porções do tecido ósseo, muscular e adiposo da seção costal, de acordo com o método proposto por Hankins e Howe (1946).

3.6. Análise de expressão gênica de genes relacionados ao anabolismo e catabolismo muscular.

Após o abate dos animais, antes da entrada na câmara fria, foram colhidas 48 amostras na região do músculo *Longissimus thoracis*, sendo 16 (dezesesseis) amostras por tratamento para posterior análise de expressão gênica. As amostras foram devidamente preparadas, acondicionadas e encaminhadas ao Laboratório de Biologia de Músculos Estriados- LBME, Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu. A avaliação quantitativa da expressão gênica foi realizada por reação em RT-qPCR. Os genes avaliados no presente estudo foram: marcador antioxidante SOD1, genes relacionados à síntese de proteínas (anabolismo), Igf1, Igf2, mtor e genes relacionados ao catabolismo muscular, FOXO1, murf1 e Atrogin-1.

Extração de RNA total

Fragmentos de músculo congelado foram homogeneizados com politrom em 1 mL de reagente TRIzol para cada tecido de 50/100 mg (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, EUA), o material foi incubado por 5 minutos a uma temperatura de 28°C. Em seguida, a parte insolúvel foi descartada e 0,2 mL de clorofórmio foram adicionados a

cada 1 ml de TRIzol, onde a solução foi incubada por 3 minutos a 28°C e centrifugada a 1.2000 rpm durante 15 minutos a 4°C, a fase aquosa formada foi separada. O RNA foi precipitado com 0,5 mL de álcool isopropílico por 10 minutos a 28°C e centrifugado a 1.2000 rpm por 10 minutos a 4°C. O sedimento de RNA formado foi seco a 28°C durante 25 minutos, seguido de ressuspensão em água ultrapura e finalmente armazenado a -80°C. O espectrofotômetro NanoVue™ Plus (GE Healthcare, EUA) foi utilizado para quantificar o RNA, o que também permitiu uma estimativa da qualidade da extração pela medida da absorbância de 260 nm (quantidade de RNA) e 280 nm (quantidade de proteínas). A pureza do RNA foi garantida pela obtenção de uma razão de 260/280 nm superior a 1,8. A integridade (qualidade) do RNA total extraído foi avaliada por eletroforese em gel de agarose a 1%.

Tratamento de RNA com DNase

Como as instruções de protocolo DNase I- Grau de amplificação (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, EUA), 1 µg de RNA total para a reação de transcrição reversa foi transferida para um tubo de microcentrífuga estéril, que foi adicionado 1 µL de tampão de reação DNase I 10X 10X, 1 µL de DNase I Amp Grade (1U/ µL) e água-DEPC (tratado com 0,01% de dietilpirocarbonato- DEPC-SIGMA) em quantidade suficiente para completar 10 µL de solução. Esta solução permaneceu à temperatura ambiente por 15 minutos e, em seguida 1 mL de EDTA (25 mM) foi adicionado e incubado a 65°C por 10 minutos para inativação total da enzima DNase I.

Transcrição Reversa (RT)

A reação de transcrição reversa (RT) foi realizada com o kit de alta capacidade de cDNA Archive (Life Technologies- EUA). Cada 2 µg de RNA total foram obtidos da transcriptase reversa do músculo esquelético mais 10 µL de tampão (10X RT buffer), 4 µL de dNTPs (25X), 10 µL de iniciadores Random (10X), 2,5 µL de enzima MultiScribe Reverse Transcriptase Reversa (50 unidades/ µL), 2,5 µL de inibidor de ribonuclease recombinante RnaseOUT (40 unidades/ µL) (Invitrogen Life Technologies, EUA) e o volume final da reação ajustado para 100 µL com água ultrapura. As amostras foram incubadas por duas horas no termociclador (10 minutos a 95°C, 40 ciclos de 15 segundos para desnaturação a 95°C e recozimento a 55°C e extensão a 72°C por uma hora). Em seguida, os produtos de RT foram armazenados a -20°C.

Reação em Cadeira da Polimerase em Tempo Real (qPCR)

Os níveis de expressão dos genes selecionados foram detectados por RTqPCR pelo sistema QuantStudio™ 7 Flex em tempo real PCR (Applied Biosystems, EUA). O cDNA

dos mRNAs genéticos foi amplificado usando o kit Master Mix Power SYBRTM Green PCR (Applied Biosystems, EUA). Para cada amostra muscular, 2uL de cDNA (equivalente a 40 ng do RNA total), 12,5 uL de Power SYBR[®] Green Mix (2,5X), 1,5 uL de iniciadores sensoriais e 1,5 uL de Primer anti-sense e 7,5 uL de água ultrapura, suficiente para um volume final de 25 uL de solução. As reações para cada gene foram realizadas em duplicatas. As condições de termociclagem da reação qPCR foram padronizadas de acordo com as instruções do fabricante do equipamento. Para análise e normalização das reações, foram avaliados 2 genes de referência: PPAR α e HPRT1. Segundo o programa BestKeeper (PFAFFL et al., 2004), o gene HPRT1 foi o que demonstrou maior estabilidade durante as fases do experimento, sendo o gene escolhido para normalização dos dados de expressão gênica. O cálculo da expressão relativa foi calculado pelo método de Pfaffl (PFAFFL, 2001).

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental foi em bloco casualizados, os dados foram analisados utilizando-se o PROC MIXED do SAS (2003) de acordo com o modelo abaixo:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + B_k + Baia(T_i) F_j + T_i * F_j + e_{ijkl}$$

Em que: Y_{ijkl} = observação relativa a l-ésima unidade experimental (baia) da i-ésima tratamento (T) na j-ésima fase (F) dentro do k-ésimo bloco (B); μ = média geral; T_i = efeito da i-ésima T, sendo 1: Controle; 2: 1 mg/ cab/ fase de 25-hidroxicoilecalciferol; 3: 3 mg/ cab/ fase de 25-hidroxicoilecalciferol F_j = efeito aleatório da j-ésimo fase; $Baia(T_i)$ = erro experimental “a” associado a observação Y_{ijk} ; F_j = efeito da j-ésima F, sendo 1: 0, 2: 1; 3: 2. $T_i * F_j$ = efeito de interação entre T e F; e_{ijkl} = erro experimental “b” associado à observação Y_{ijk} (0;).

Foram utilizados contrastes ortogonais para avaliar a relação linear e quadrática da duração da adaptação com a variável resposta avaliada. Da mesma forma, os dados foram submetidos a testes de normalidade e heterogeneidade de variâncias antes de se proceder as análises e quando necessário, os dados foram transformados. Foram considerados significativos valores de $p \leq 0,05$.

Foi utilizado o modelo linear misto de acordo com o modelo abaixo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + e_{ijk}$$

Em que: Y_{ijk} = observação relativa à k-ésima unidade experimental (baia) da i-ésima Tratamento (T) dentro do j-ésimo bloco (B); μ = média geral; T_i = efeito da i-ésima T, sendo o 1: Controle; 2: 1 mg/ cab/ fase de 25-hidroxicoilecalciferol; 3: 3 mg/ cab/ fase de

25-hidroxicolecalciferol; B_j = efeito aleatório do j -ésimo bloco; e_{ijk} = erro experimental associado a observação Y_{ijk} (0;).

Da mesma forma, os dados foram avaliados por análise de variância utilizando-se o PROC MIXED do SAS (2003), e foram utilizados contrastes ortogonais para avaliar a relação linear ou quadrática da duração da adaptação com a variável resposta avaliada. Quando a interação foi significativa o teste de Tukey foi utilizado para comparação entre as médias. Como descrito para o modelo anterior, os dados foram submetidos a testes de normalidade e heterogeneidade de variâncias antes de se proceder as análises e quando necessário, os dados foram transformados. Foram considerados significativos valores de $P \leq 0,05$.

Para análise estatística de expressão gênica foi utilizado o Programa quantStudio e os dados brutos de todos os genes e seus respectivos Cts foram organizados em planilhas. Para a análise de ***Delta_delta_CT_fold_Change*** ($2^{-(\text{delta delta CT})}$), foi utilizado o programa qGENE que consiste em uma planilha eletrônica modificada, específica para esse tipo de análise e como gene referência o *hprt1*. Após esta análise foi calculado o fold change das amostras, utilizando a média do $2^{-(\text{delta delta CT})}$ do grupo controle. Para a análise do ***Fold_change_média_outliers*** foi calculada as média e DP dos *fold change* por grupo e verificado a existência de dados discrepantes. Para identificar os *outliers* foi avaliada a amplitude interquartil “IQR. Para a análises estatística dos dados foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, seguido de Dunn’s.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de desempenho estão apresentados na tabela 3, sendo que não foram observadas diferenças significativas para estes parâmetros ($p > 0,05$).

Tabela 3. Desempenho de bovinos confinados suplementados com níveis de 25-hidroxicolecalciferol.

25-hidroxicolecalciferol.						
Item	Tratamentos ¹				Valor de P	
	25-hidroxicolecalciferol			EPM ²		
	Controle	1mg	3mg	EPM ²	Linear	Quadrático
³ PV Inicial, kg	375,82	375,95	375,95	8,47	0,13	0,37
³ PV Final, kg	511,8	515,3	511,6	8,89	0,97	0,49
⁴ IMS, kg	9,8	9,9	9,6	0,23	0,53	0,37
⁴ IMS/ % PV	2,21	2,24	2,16	0,051	0,40	0,32
⁵ EA kg/ kg	0,144	0,145	0,147	0,0032	0,35	0,88
⁶ GDP,kg	1,417	1,458	1,413	0,0515	0,96	0,49

¹Tratamentos: Controle: sem inclusão de 25-hidroxicolecalciferol; T1: inclusão de 1 mg de 25-hidroxicolecalciferol; T2: Inclusão de 3 mg de 25 hidroxicolecalciferol
²EPM: Erro padrão médio; ³PV: Peso vivo; ⁴IMS: Ingestão de matéria seca; ⁵IMS: Ingestão de matéria seca; ⁶GDP: Ganho de peso diário.

As concentrações plasmáticas de 25(OH)D₃, cálcio ionizado, cálcio sanguíneo e muscular, encontram-se na Tabela 4. Para nível de 25(OH)D₃ sanguíneo, houve um aumento linear para tratamento ($p < 0,0001$) e interação tratamento e fase ($p = 0,04$), em que a concentração foi crescente (tabela 4 figura 2). O plasma 25(OH)D₃ é considerado o melhor indicador de níveis de vitamina D, portanto, está relacionado com as concentrações plasmáticas de cálcio. Wertz et al. (2004); e Cho et al. (2006) em pesquisa, obtiveram resultados semelhantes ao presente estudo, mesmo que utilizando maiores níveis de 25(OH)D₃. Wertz et al. (2004) documentaram que um bolus oral único de 62,5 ou 125 mg de 25(OH)D₃, 35 dias ou menos antes do abate, aumentaram as concentrações plasmáticas de 25(OH)D₃, corroborando com o presente estudo. Cho et al. (2006) testando os efeitos de 125 mg de 25(OH)D₃ 6 dias antes do abate, juntamente com o balanço cátion-aniônica (DCAD), em vacas coreanas, encontraram um aumento do nível de 25(OH)D₃ no sangue, quando esses animais receberam somente a suplementação de 25(OH)D₃, e também para o tratamento DCAD+25(OH)D₃, resultado semelhante ao do presente estudo.

Para cálcio plasmático, houve diferença significativa para fase ($p < 0,0001$), no qual obteve um aumento da concentração entre os tratamentos, quando comparado o tratamento controle (68,2) com os tratamentos suplementados com 1 mg (70,8) e 3 mg (70,4), respectivamente. Os resultados do presente estudo, estão de acordo com os dados relatados por Cho et al. (2006), que encontraram um aumento do cálcio sérico em vacas quando testaram a suplementação com 125 mg de 25-hidroxicolecalciferol 6 dias antes do abate + DCAD (balanço cátion-aniônico), resultados que parecem estar ligados à aceleração do processo de amaciamento da carne, entretanto, Wertz et al. (2004) relataram que as concentrações de cálcio plasmático não diferiram entre os tratamentos que receberam um único bolus oral de 62,5 ou 125 mg de 25- hidroxicolecalciferol, 4, 7, 21 ou 35 dias antes do abate. Carnagey et al., 2008a, em estudo com bovinos utilizando 500 mg de 25-hidroxicolecalciferol e 1.000 UI de vitamina E para melhorar a maciez da carne, encontraram aumento na concentração plasmática de Ca, quando 25- hidroxicolecalciferol foi administrado com ou sem vitamina E.

Além disso, foi encontrada interação entre tratamento e fase para cálcio ionizado ($p = 0,04$), em que houve um aumento da concentração entre tratamentos, embora os níveis entre as fases inicial (0,82), intermediária (0,76) e final (0,67) ($p < 0,0001$) tenham sido decrescentes (tabela 4 figura 1). Sendo um indicador, utilizado na suspeita de intoxicação por vitamina D e da glândula paratireoide, vários fatores podem influenciar a proporção da fração do cálcio ionizado, sendo os mais importantes a concentração de proteínas sérica e

albumina, o pH do sangue e a temperatura corporal (Sena e Bowers, 1988). A verificação do nível de cálcio ionizado, em animais em condições normais, está entre 4,3 a 5,1 mg/dL (1,06 a 1,26 mmol/L) (Radostits O. M, 2002), podendo conferir melhor ideia sobre a condição do animal. No presente estudo, os valores de cálcio ionizado estão abaixo das condições normais, entretanto, os níveis de pH sanguíneo e temperatura corporal estão dentro do estimado, dessa maneira, esses parâmetros não estão relacionados com os baixos valores de cálcio ionizado. Além disso, o resultado do nível de 25 (OH)D₃ sanguíneo mostra que os animais que receberam a suplementação estavam com concentrações adequadas de vitamina D no sangue, mencionando que esses animais não foram intoxicados.

Para cálcio muscular, houve diferença significativa ($p=0,001$), onde os animais que receberam o tratamento de 3 mg apresentaram o maior valor (0,07mmol/L), diferindo dos tratamentos controle (0,04 mmol/L) e 1 mg (0,01 mmol/L). As concentrações de cálcio muscular são importantes, visto que seu aumento pode levar ao aumento da ativação do sistema das calpaínas, mecanismo que está relacionada ao amaciamento da carne (Taylor et al. (1995). Montgomery et al., (2004) relataram que a suplementação oral de novilhos com 0,5 e 1 ou 5x 10⁶ UI de vitamina D₃ por 8 dias antes do abate, aumentaram as concentrações de cálcio muscular quando comparado ao tratamento controle, corroborando com o presente estudo, entretanto, também relataram no mesmo estudo que os tratamentos com vitamina D₃ e a baixa atividade da m- calpaína não foram afetados. Além disso, Wertz et al., (2004) relataram que as concentrações musculares de cálcio não diferiram entre os tratamentos que receberam um único bolus oral de 62,5 ou 125 mg de 25-hidroxicolecalciferol, 4, 7, 21 ou 35 dias antes do abate. Lawrence et al, 2006 não encontraram efeito nas concentrações de cálcio muscular e cálcio plasmático, quando novilhos receberam 125 mg de 25 hidroxicolecalciferol por 6, 4 ou 2 dias antes do abate, diferindo do presente estudo.

Tabela 4. Nível de 25-(OH)D₃, cálcio sanguíneo e muscular de bovinos confinados suplementados com níveis de 25-hidroxicolecalciferol.

Item	Tratamentos ¹			Período de coleta ²			Valor de P ⁴					
	25-hidroxicolecalciferol			Inicial	Interm	Final	EPM ³	Linear	Quadrático	Trat	Fase	Trat*Fase
	Controle	1mg	3mg									
25-(OH)D ₃ (ng.mL-1)	21,2	70,1	114,1	29,2	91,3	84,9	3,68	0,01	0,48	<0,0001	<0,0001	0,04
Cálcio sanguíneo (µg/mL)	68,2	70,8	70,4	77,0 ^a	73,0 ^a	59,5 ^b	1,06	0,37	0,09	0,14	<0,0001	0,43
Cálcio ionizado, mmol/L	0,73	0,75	0,77	0,82	0,76	0,67	0,023	0,05	0,94	0,12	<0,0001	0,04
Cálcio muscular (mmol/l)	0,04	0,01	0,07	-	-	-	0,076	0,038	0,001	-	-	-

¹Tratamentos: Controle: sem inclusão de 25-hidroxicolecalciferol; T1: inclusão de 1 mg de 25-hidroxicolecalciferol; T2: Inclusão de 3 mg de 25 hidroxicolecalciferol

²Período de coleta: Inicial, intermediário e final

³EPM: erro padrão médio/ amostras de plasma foram analisadas no laboratório de referência do DSM CEMSA - Centro de Espectrometria de Massa Aplicada Ltda

⁴Trat: efeito de tratamento; Fase: efeito de fase; Trat*Fase: efeito de tratamento e fase.

⁵Níveis de 25- hidroxicolecalciferol sanguíneo.

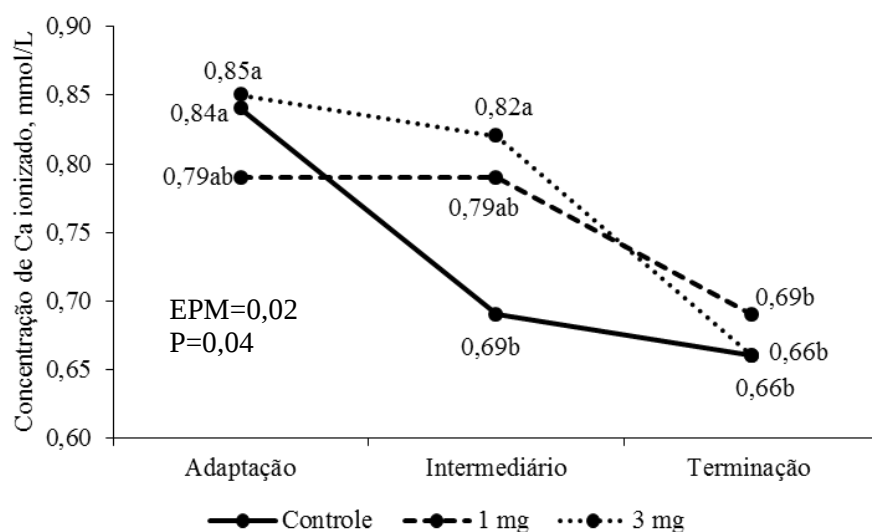


Figura 1. Concentração de cálcio ionizado (mmol/L) no sangue de bovinos confinados suplementados com níveis de 25-hidroxicoilecalciferol. ^{a, b} Média com letras distintas diferem ($P < 0,05$).

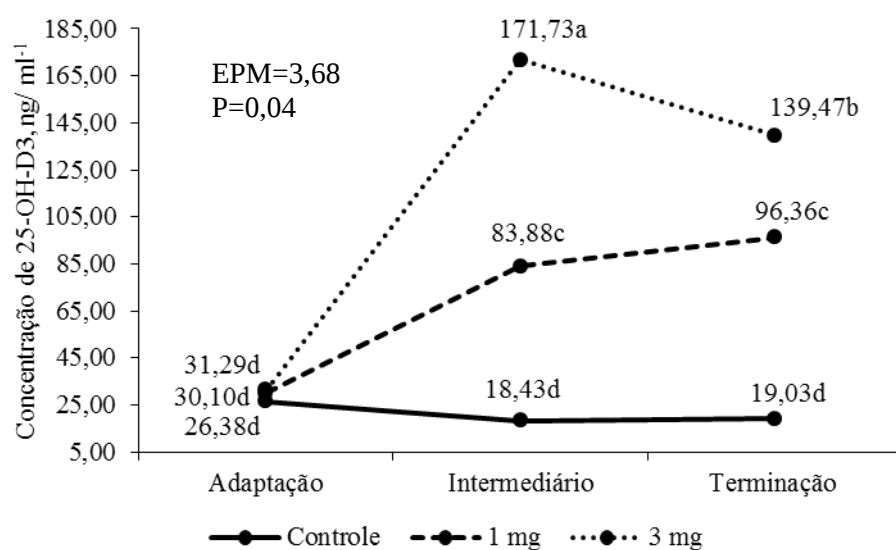


Figura 2. Níveis de 25-OH-D₃ (ng/ ml-1) no sangue de bovinos confinados suplementados com níveis de 25-hidroxicoilecalciferol. ^{a, b} Média com letras distintas diferem ($P < 0,05$).

Os resultados do Perfil metabólico sanguíneo encontram-se na tabela 5. Foi encontrada diferença significativa para tratamento ($p=0,03$) e fase ($p=0,02$) para a variável de $T^{\circ}\text{C}$. A variável de temperatura corporal dos animais no presente estudo foi necessária para a sequência dos demais parâmetros analisados, os valores estão dentro dos valores de referência descritos por Robinson (1999), entretanto as condições climáticas nos dias de coleta podem ter interferido na temperatura corporal de alguns animais. Para pH os resultados foram maiores na fase intermediária (7,38) e final (7,36), quando comparado com a fase inicial (7,32), encontrando diferença significativa entre fase ($p<0,0001$), entretanto, os resultados estão dentro dos valores de referência descritos por Carlson (1997), conforme descrito na tabela 2. Além disso, a variável de glicose diferiu entre fase ($p<0,0001$). Spinosa et al. (2012) cita que valores de glicose sanguínea em bovinos entre 40 a 80 mg/dL, são considerados normais. No presente estudo, o tratamento com 1 mg mostrou resultado mais aproximado de 84,4. Em lactato, os resultados diferiram entre tratamento ($p=0,04$) onde os níveis foram crescentes entre os tratamentos controle (2,6), 1 mg (3,2) e 3 mg (3,5).

Tabela 5. Perfil metabólico sanguíneo de bovinos confinados suplementados com níveis de 25-hidroxicolecalciferol.

Item	Tratamentos ¹			Período de coleta ²			Valor de P ⁴					
	25-hidroxicolecalciferol			Inicial	Interm	Final	EPM ³	Linear	Quadrático	Trat	Fase	Trat*Fase
<i>Gasometria</i>	Controle	1mg	3mg									
T°C	39,3	39,1	39,2	39,2	39,1	39,4	0,06	0,08	0,05	0,03	0,02	0,40
pH	7,36	7,36	7,34	7,32	7,38	7,36	0,009	0,09	0,45	0,19	<0,0001	0,13
Beeef ⁵ , mmol/L	-0,11	-0,13	-0,77	-0,7	-0,0	-0,3	0,33	0,18	0,45	0,30	0,35	0,26
Bicarbonato, mmol/ L	24,6	24,7	24,3	24,7	24,6	24,3	0,25	0,35	0,51	0,52	0,67	0,24
Total de CO ₂ , mmol/ L	25,8	25,7	25,6	26,0	25,7	25,3	0,28	0,48	0,90	0,77	0,18	0,24
Glicose, mg/ dL	86,0	84,4	90,4	103,0	84,8	73,1	2,78	0,31	0,17	0,37	<0,0001	0,95
Lactato, mmol/ L	2,6c	3,2ab	3,5a	3,19	3,097	3,10	0,319	0,01	0,48	0,04	0,76	0,07

a,b Na linha, médias sem sobrescritos em comum diferem pelo teste de Tukey (P<0,05) para os tratamentos.

1Tratamentos: Controle: sem inclusão de 25-hidroxicolecalciferol; T1: inclusão de 1 mg de 25-hidroxicolecalciferol; T2: Inclusão de 3 mg de 25 hidroxicolecalciferol

2Período de coleta: Inicial, intermediário e final

3EPM: erro padrão médio.

4Trat: efeito de tratamento; Fase: efeito de fase; Trat*Fase: efeito de tratamento e fase.

5Beeef: excesso de base no fluido extracelular.

Os resultados para características de carcaça foram apresentados na tabela 6. Houve diferença significativa ($p=0,03$) para rendimento de carcaça, em que a porcentagem foi maior para os animais que receberam 1 mg de 25- hidroxicolecalciferol (56,4 %). Knock, (2007) em estudo semelhante com bovinos confinados e a pasto suplementados com 25- hidroxicolecalciferol, não encontraram diferença significativa para rendimento de carcaça, entretanto, os animais confinados que receberam a suplementação, obtiveram um maior rendimento quando comparado aos animais a pasto. No presente estudo, o resultado mostra que a suplementação de 1 mg de 25- hidroxicolecalciferol na dieta de bovinos confinados aumentou o rendimento de carcaça dos animais.

Tabela 6. Características de carcaça de bovinos confinados suplementados com níveis de 25-hidroxicolecalciferol.

Item	Tratamentos ¹				Valor de P	
	Controle	25- hidroxicolecalciferol		EPM ²		
		1mg	3mg		Linear	Quadrático
Peso vivo final, kg	511,8	515,3	511,6	8,89	0,97	0,49
Peso de carcaça quente, kg	286,1	290,3	285,7	4,89	0,93	0,18
Rendimento de carcaça, %	55,9 ^b	56,4 ^a	55,9 ^b	0,20	0,94	0,03
³ AOL inicial, cm ²	71,7	71,4	70,1	1,57	0,24	0,65
³ AOL Final, cm ²	80,4	82,9	79,4	1,54	0,67	0,09
Marmoreio inicial, mm	2,87	2,76	2,77	0,098	0,49	0,62
Marmoreio Final	3,1	3,0	2,9	0,10	0,21	0,89
⁴ EGS inicial, mm	3,02	3,07	3,01	0,112	0,94	0,68
⁴ EGS Final, mm	5,1	5,4	4,9	0,30	0,50	0,32
⁵ P8 inicial, mm	5,7	5,8	5,6	0,18	0,64	0,33
⁵ P8 final, mm	8,1	8,6	8,0	0,29	0,70	0,13
Ganho AOL, cm ²	0,16	0,22	0,18	0,021	0,67	0,09
Ganho EGS, mm	0,04	0,044	0,035	0,0047	0,44	0,30
Ganho P8, mm	0,04	0,05	0,04	0,004	0,87	0,20

¹Tratamentos: Controle: sem inclusão de 25-hidroxicolecalciferol; T1: inclusão de 1 mg de 25-hidroxicolecalciferol; T2: Inclusão de 3 mg de 25 hidroxicolecalciferol

²EPM: erro padrão médio

³Área de olho de lombo; ⁴Espessura de gordura subcutânea; ⁵Espessura de gordura na garupa.

Os resultados de avaliação da qualidade da carne estão contidos na tabela 7. Foi observada diferença para o parâmetro pH da carne com efeito linear crescente conforme a dosagem de 25-hidroxicolecalciferol, onde os animais que receberam a suplementação de 3 mg obtiveram o maior valor (5,97), diferindo dos tratamentos controle (5,70) e 1 mg (5,79). Montgomery et al, 2004, encontraram que bovinos confinados suplementados com diferentes níveis de vitamina D₃ (0, 0,5, 1 e 5 milhões de UI/ cab/ dia), 8 dias antes do abate obtiveram carnes com maior a maciez. Carnegey et al., 2008b, testaram duas doses de 25- hidroxicolecalciferol (250 e 500 mg), através de um único bolus 7 dias antes do abate de vacas, e comprovaram que essa suplementação teve uma influência na maciez da

carne. Entretanto, Lawrence et al, 2006, não encontraram efeito na cor da carne, perda por cocção, força de cisalhamento e pH da carne, quando testaram 125 mg de 25-hidroxicolecalciferol em novilhos por 6, 4 ou 2 dias antes do abate.

No presente estudo, ao suplementar os animais com 25-hidroxicolecalciferol, para os parâmetros de qualidade da carne somente foi encontrado efeito para pH ($p=0,005$) não mostrando diferença na maciez da carne quando os animais receberam a suplementação de 25-hidroxicolecalciferol.

Tabela 7. Qualidade da carne músculo *Longissimus Thoracis* de bovinos confinados suplementados com níveis de 25-hidroxicolecalciferol.

Suplementados com níveis de 25 hidroxicolecalciferol:						
	Tratamentos ¹				Valor de P	
	Controle	25-hidroxicolecalciferol		EPM ²		
		1mg	3mg			
Força de cisalhamento	4,15	4,19	3,95	0,208	0,49	0,60
Perda por cocção (%)	19,4	19,6	20,2	0,79	0,50	0,84
pH da carne	5,70	5,79	5,97	0,061	0,005	0,564
Luminosidade	40,8	39,4	40,4	0,82	0,74	0,23
Chroma a * vermelho	13,4	13,0	13,1	0,54	0,71	0,68
Chroma b * amarelo	9,1	8,4	8,5	0,38	0,63	0,27

¹Tratamentos: Controle: sem inclusão de 25-hidroxicolecalciferol; T1: inclusão de 1 mg de 25-hidroxicolecalciferol; T2: Inclusão de 3 mg de 25-hidroxicolecalciferol

²EPM: erro padrão médio

Os resultados de composição física da carne se encontram na tabela 8. Foi encontrada diferença significativa para o tecido adiposo, onde o resultado foi linear ($p=0,03$) e os valores decresceram entre os tratamentos controle (31,4), 1 mg (28,7) e 3 mg (28,8) e os animais suplementados apresentaram menores valores comparado com o tratamento controle.

Tabela 8. Composição física da seção HH das 9ª a 11ª costelas de bovinos confinados suplementadas com níveis de 25-hidroxicolecalciferol.

Suplementados com níveis de 25-hidroxicolecalciferol						
Tecidos (%)	Tratamentos ¹				Valor de P	
	Controle	25-hidroxicolecalciferol		EPM ²		
		1mg	3mg		Linear	Quadrático
Ósseo	17,1	17,3	17,7	0,76	0,58	0,86
Adiposo	31,4	28,7	28,8	0,91	0,03	0,14
Muscular	51,3	53,8	53,3	0,86	0,11	0,16

¹Tratamentos: Controle: sem inclusão de 25-hidroxicolecalciferol; T1: inclusão de 1 mg de 25-hidroxicolecalciferol; T2: Inclusão de 3 mg de 25-hidroxicolecalciferol

²EPM: Erro padrão médio

Para os resultados de expressão gênica, foram utilizados os qPCRs apresentados na tabela abaixo.

Tabela 9. qPCRs utilizados para análises da expressão gênica no músculo esquelético de bovinos confinados suplementado com níveis de 25-hidroxicoalciferol.

Número de acesso	Símbolo do gene	Avançado (5' - 3')	Avançado (5' - 3')
NM_001077828.1	IGF1	AGGATGTGATGGGCATCTTC	AAGCAATGGGAAAAATCAGC
NM_174087.3	IGF2	CAGGTTTGGGTCTTTGGTGT	TTGCAGGTAGGCTTGTCCTT
XM_015466778.1	MTOR	CCACGGACCAGTGAGGTAAT	TGGAGGACACGGATTAGGAC
NM_001001525.3	MSTN	TTGGGTTTTCTTCCACTTG	GCTCCTTGGAAGACGATGAC
NM_001017951.1	TRIM54	CCTCAAACCTCTGGTTCAGC	TCACACAGATGGAGGAGGTG
NM_001046155.1	FBXO32	ATCATCAGGGGAACCCTTCT	TTTCACTTTACCCCAGGAC
NM_174615.2	SOD1	TCTCCAAACTGATGGACGTG	CTTCGAGGCAAAGGGAGATA
XM_015473787.1	FOXO1	CTGGGTGGACACAGTCAATG	CCCTGAGAACATGGAGAACC
NM_001034035.2	HPRT1	ACACTTCGAGGGGTCCTTTT	AGACTTTGCTTGCTTGCTC
NM_001034036.1	PPARA	AGAGGAAGACGTCGTCAGG	AGAAAATGCAGGAGGGTATT

Em relação aos resultados de expressão gênica, não foram encontradas diferença significativa para nenhum gene. Entretanto, houve uma tendência à maior expressão dos genes anabólicos IGF1, IGF2 e mTOR nos grupos que receberam a suplementação em relação ao grupo controle. (Figuras 4 e 5). Não houve diferença estatística entre os grupos que receberam a suplementação em relação ao grupo controle na expressão de genes relacionados ao catabolismo muscular, OXO1, murf1 e Atrogin-1, (Figura 7). A expressão do fator de crescimento da miostatina (mstn) também mostrou tendência à maior expressão nos grupos que receberam a suplementação, sem diferença estatística.

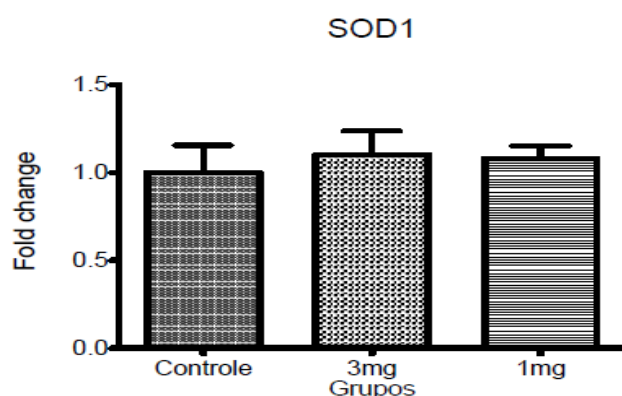


Figura 3. Expressão do marcador antioxidante (SOD1).

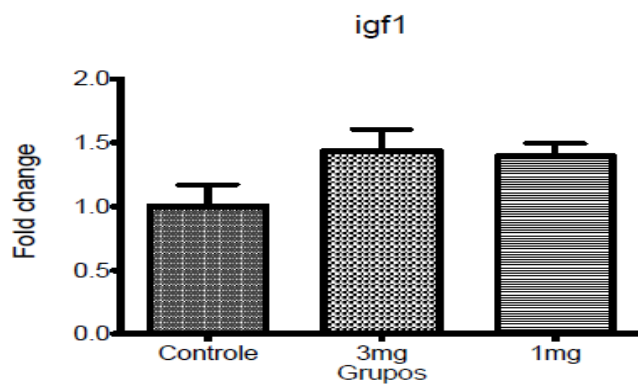


Figura 4. Expressão do gene anabólico IGF1.

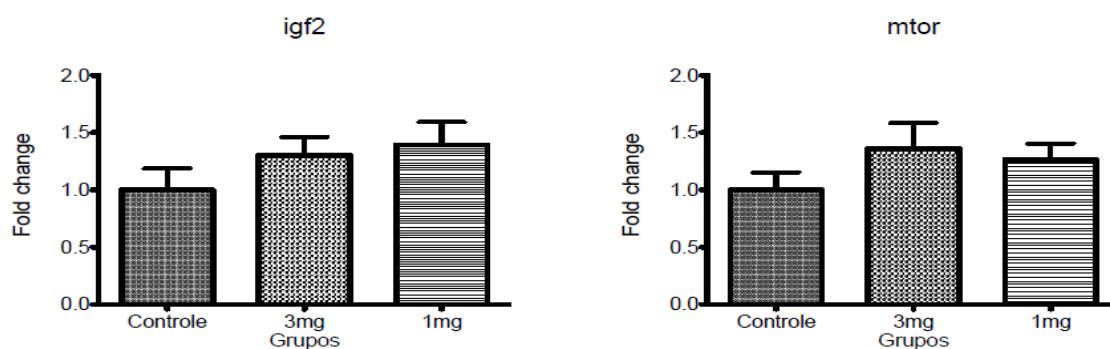


Figura 5. Expressão de mRNA dos genes anabólicos IGF2 e mTOR.

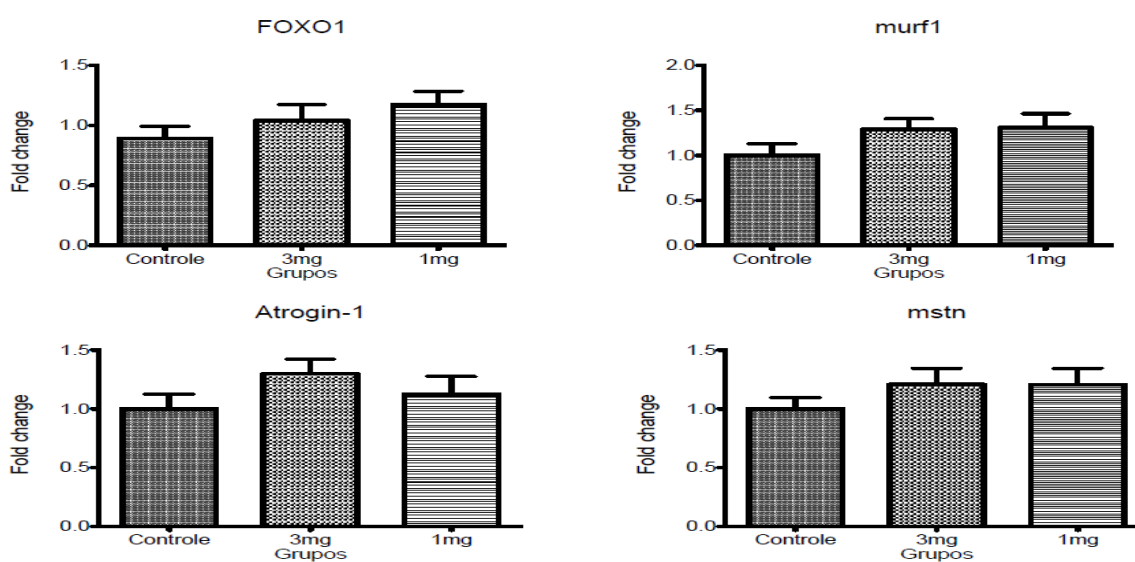


Figura 6. Expressão do mRNA dos genes catabólicos FOXO1, murf1, Atrogin-1 e miostatina (mstn).

6. CONCLUSÃO

A suplementação de 1 mg de 25-hidroxicolecalciferol na dieta de bovinos confinados mostrou resultados significativos no rendimento de carcaça, cálcio sanguíneo, cálcio muscular e pH da carne. Entretanto, são necessários estudos complementares que analisem a relevância dos níveis dos efeitos dessa suplementação com um aprofundamento abrangente em bovinos confinados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, M. J.; LONERGAN, S. M.; FEDLER, C. A.; PRUSA, K. J.; BINNING, J. M.; HUFF-LONERGAN, E. Profile of biochemical traits influencing tenderness of muscles from the beef round. **Meat Science**, v. 91, n. 3, p. 247-254, 2012.

ARAUJO, L. F.; ARAUJO, C. S. S.; PEREIRA, R. J. G.; BITTENCOURT, L. C.; SILVA, C. C.; CISNEROS, F.; HERMES, R. G.; SARTORE, Y. G. A; DIAS, M. T. The dietary supplementation of canthaxanthin in combination with 25OHD₃ results in reproductive performance, and progeny quality gains in broiler breeders. **Poultry Science**, v. 98, p. 5801–5808, Novembro. 2019.

BAKER, G. A.; GUILBERT, H. R. Non-randomness of variations in daily weights of cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 1, p. 293-299, 1942.

BARROS, R. **Efeito da vitamina D ativada no desempenho zootécnico e qualidade óssea de suínos**. 2010. 57f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

BELLA, M. L. **Colecalciferol regula os parâmetros hematológicos e a produção de citocinas pró-inflamatórias renais em camundongos diabéticos e nas células RAW 264.7**. 2018. p. 131. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2018.

BEVANS, D. W.; BEAUCHEMIN, K. A.; SCWARTZKOPF-GENWEIN, K. S.; MCKINNON, J. J.; MCALLISTER, T. A. Effect of rapid or gradual grain adaptation on subacute acidosis and feed intake by feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, p. 1116-1132, 2005.

BIGHAM, M. L.; MCMANUS, W. R. Whole wheat grain feeding of lambs: effects of roughage and wheat grain mixtures. **Australia Journal of Agricultural Research**, p. 1053-1062, 1975.

BRINK, D. R., LOWRY, S. R., STOCK, R. A., PARROT, J. C. Severity of liver abscesses and efficiency of feed utilization of feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, p.1201-1207, 1990.

BRITO, J. A. G.; BERTECHINI, A. G.; FASSANI, E. J.; RODRIGUES, P. B.; LIMA, E. M. C.; MENEGHETTI, C. Efeito da vitamina D3 e 25-hidroxi-colecalciferol sobre o desempenho, o rendimento de carcaça e a morfologia intestinal de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 12, 2010.

BROSSARD, L., C. MARTIN, B. Michalet-Doreau. Ruminal fermentative parameters and blood acid-basic balance changes during the onset and recovery of induced latent acidosis in sheep. **Animal Research**, Cambridge, v. 52, p. 513–530, 2003.

CANTORNA, M.T.; MAHON, B. Mounting evidence for vitamin D as an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence. **Society for Experimental Biology and Medicine**, Maywood, v. 229, n. 11, p. 1136-42, 2004.

CARNAGEY, K. M.; HUFF-LONERGAN, E. J.; TRENKLE, A. et al. Use of 25-hydroxyvitamin D3 and a vitamin E to improve tenderness of beef from the *Longissimus dorsi* of heifers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 86. p. 1649-1657, 2008a.

CARNAGEY, K. M.; HUFF-LONERGAN, E. J.; LONERGAN, S. M. et al. Use of 25-hydroxyvitamin D3 and dietary calcium to improve tenderness of beef from the round of beef cows. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 86. p. 1637-1648, 2008b.

COSTA, S. F.; PEREIRA, M. N., MELO, L. 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. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.1-3 9, 2008.

CHO, Y.M.; CHOI, H.; HWANG, I.H.; KIM, Y.K.; MYUNG, K.H. Effects of 25-hydroxyvitamin D3 and manipulated dietary cation-anion difference on the tenderness of beef from cull native Korean cows. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 84, p. 1481-1488, 2006.

DANIEL, J.L.P., RESENDE JÚNIOR, J. C., CRUZ, F. J. Participação do ruminoretículo e omaso na superfície absorptiva total do proventrículo de bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 5, p. 688-694, 2006.

DILorenzo, N. **Efeitos da alimentação de preparações de anticorpos policlonais contra amido ruminal e bactérias fermentadoras lácticas nas populações de bactérias alvo e no desempenho**. Saint Paul, Minnesota, USA: University of Minnesota, 2004, p.101. Master thesis submitted to the faculty of the graduate school of the University of Minnesota, 2004.

FOX, D. G.; TEDESCHI, L. O.; TYLUTKI, T. P. The cornell net carbohydrate and protein system model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. **Anim Feed Sci Technol**. n. 112, p. 29-78. 2004.

GARCIA, A. F. Q. M.; MURAKAMI, A. E.; DUARTE, C. R. A.; et al. Use of Vitamin D₃ and Its Metabolites in Broiler Chicken Feed on Performance, Bone Parameters and Meat Quality. **Asian-Australas J. Anim. Sci.** v. 26, n. 3, p. 408–415, 2013.

GARCION, E.; WION-BARBOT, N.; MONTERO-MENEI, C. N.; BERGER, F.; WION, D. New clues about vitamin D functions in the nervous system **Endocrinology & Metabolism**, 2002.

GUERRA, A. F. Q.G.; MURAKAMI, A. E.; SANTOS, T. C.; EYNG, C.; PICOLI, K. P.; OSPINA-ROJAS, I. C. Utilização da vitamina D₃ e seus metabólitos na alimentação de frangos de corte sobre parâmetros imunológicos e morfometria intestinal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 5, p. 477-484, 2014.

HEINRICHS, J. Evaluating particle Size of Forages and TMRs using the Penn State Particle Size Separator. Pennsylvania: Pennsylvania State University, State College, 1996.

HOLICK, M.F. Vitamin D. The underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health. **Current Opinion in Endocrinology & Diabetes**, v. 9, p. 87–98, 2002.

HONIKEL, K.O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. **Meat Science**, v. 49, p. 447-457, 1998.

IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Estatística da Produção Pecuária, 2018. Disponível em https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/2380/epp_2018_4tri.pdf.

Acesso em: 29 nov. 2019.

JOHNSON, T.R.; COMBS, D.K. Effects of prepartum diet, inert rumen bulk, and dietary polythylene glycol on dry matter intake of lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 3, p. 933-47 944, 1991.

KARGES, K.; BROOKS, J.C.; GILL, D.R.; BREAZILE, J.E.; OWENS, F.N.; MORGAN, J.B. Effects of supplemental vitamin D₃ on feed intake, carcass characteristics, tenderness, and muscle properties of beef steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 79, n. 11, p. 2844-2850, 2001.

KOTRLA, L.A.; STANKO, R.L. TIPTON, N.C.; PASCHAL, J.C. Effect of vitamin D₃ supplementation on carcass tenderness in Brahman- based cattle. **Journal of Animal Science**, Champaing. v. 79, n. 2, p. 9-10, 2001.

LAWRENCE, R. W.; DOYLE, J.; ELLIOTT, R.; LOXTON, I.; MCMENIMAN, J. P.; NORTON, B. W.; REID, D. J.; TUME, R. W. The efficacy of a vitamin D₃ metabolite for improving the myofibrillar tenderness of meat from *Bos indicus* cattle. **Meat Science**, v.72, n.1, p. 69- 78, 2006.

LEONARDI, C., L. E. ARMENTANO, L. E. Effect of quantity, quality and length of alfalfa hay on selective consumption by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 2, p. 557-564, 2003.

LOFGREEN, G. P., GARRET, W. N. A system for expressing net energy requirements and feed values for growing and finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 27, p. 793-806, 1968.

MONTGOMERY, J. L.; BLANTON JR, J. R.; HORST, R. L.; GALYEAN, M. L.; MORROW JR, K. J.; ALLEN, V. G.; WESTER, D. B.; MILLER, M. F. Effect of supplemental vitamin D3 concentrations of calcium, phosphorus, and magnesium relative to protein in subcellular components of the longissimus and the distribution of calcium within longissimus muscle of beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 2742-2749, 2004.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 6 ed. Washington, D.C: National Academy Press, 1984.

OEHLSCHLAEGER, V.; WILKENS M.; SCHROEDER, B.; DAENICKE, S.; BREVES, G. Effects of 25-hydroxyvitamin D3 on localization and extent of gastrointestinal calcium absorption in dairy cattle. **Animal Production Science**, v. 54, p. 1394-1398, 2014.

PEDREIRA, A. C. M. S.; LUCHIARI FILHO, A.; LEITE, V. B. O.; CARVALHO, M.H. Quality characteristics of *Longissimus dorsi* muscle from *Bos indicus* animals treated with vitamin D3. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 60, n. 4, p. 637-642, 2003.

PEREIRA, M. C. S. **Desempenho produtivo, comportamento ingestivo, características de carcaça, morfometria ruminal e cecal de bovinos Nelore confinados submetidos a restrição nutricional ou consumo de ingredientes concentrados antes do período de adaptação**. 2019. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2019.

PROWEDINI, D.M.; TSOUKAS, C.D.; DEFTOS, L.J.; MANOLAGAS, S.C. 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in human leukocytes. **Science**. v. 16, n. 221, p. 1181–1183, 1983.

RADOSTITS. O. M. **Clínica veterinária: um tratado de doenças de 494 bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. Rio de Janeiro, ed. 9, p.1278-1291. 2002.

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. **Brazilian of Journal Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v.43, n.4, p.526-536, 2006.

ROWLING, M. J.; GLINIAK, C.; GALÊS, J.; FLEET, J. C. High dietary vitamin D prevents hypocalcemia and osteomalacia in CYP27B1 knockout mice. **The Journal of Nutrition**, v. 137, n.12, p. 2608-15, 2007.

SILVA, D.J., QUEIROZ, A. C.. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, p. 235, 2002.

SMITH, E.L.; HILL, R.L.; LEHMAN, I.R.; LEFKOWITZ, R.J.; HANDLER WHITE, P. E. A. **Bioquímica dos mamíferos**. ed. 7. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 1988

SWANEK, S.S.; MORGAN, J. B.; OWENS, F. N.; GILL, D. R.; STRASIA, C. A.; DOLEZAL, H. G.; RAY, F. K. Vitamin D3 supplementation of beef steers increases longissimus tenderness. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, p. 874-881, 1999.

TAYLOR, R.G.; GEESINK, G.H.; THOMPSON, V.F. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization? **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 5, p. 1351-1367, 1995.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 10, p. 3583-3597, 1991.

YARGER, J. G.; QUARLES, C. L.; HOLLIS, B. W.; GRAY, R. W. Safety of 25-hydroxycholecalciferol in poultry rations. **Poultry Science**, v. 74, n. 9, p. 1437-1446, 1995.

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

WHEELER, T. L.; SHACKELFORD, S. D.; JOHNSON, L. P.; MILLER, M. F.; MILLER, R. K.; KOOHMARAIE, M. A comparison of Warner-Bratzler shear force assessment within and among institutions. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 2423-2432, 1997.

ZEITZ, U.; WEBER, K.; SOEGIARTO, D. W.; WOLF, E.; BALLING, R.; ERBEN, R. G. Impaired insulin secretory capacity in mice lacking a functional vitamin D receptor. **FASEB J**, v. 17, n. 3, p. 509-11, 2003.

ZINN, R. A.; SHEN, Y. An evaluation of ruminally degradable intake protein and metabolizable 13 amino acid requirements of feedlot calves. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 1280-1288, 1998.

CAPÍTULO 3

IMPLICAÇÕES

A utilização do metabólito da vitamina D₃, 25- hidroxicolecalciferol, como suplementação nas dietas de bovinos de corte confinados surge como uma inovação tecnológica que tem grande potencial, através do seu mecanismo de ação, diferentemente de ionóforos e leveduras, com sua maior importância para o metabolismo de Cálcio e Fósforo e maior crescimento muscular, auxiliando na produção e no processo de amaciamento da carne. O uso dessa suplementação para outros fins, além da maciez da carne, é um método nutricional que pode ser utilizado como um complemento nas dietas. No presente estudo, seu fornecimento de baixo nível durante todo o período de confinamento, mostrou-se eficaz em outros parâmetros, divergindo de outros estudos onde a vitamina D₃ e seus metabólitos foram fornecidos com alguns dias de antecedência do abate, objetivando melhorar a maciez da carne.

Os resultados do experimento mostram que, em relação ao desempenho produtivo, não houve diferença significativa de 25- hidroxicolecalciferol em relação ao ganho de peso consumo de matéria seca e eficiência alimentar. Para rendimento da carcaça, embora somente o tratamento de 1 mg tenha diferido, quando é realizada uma avaliação descritiva do comportamento das curvas de dados de peso e rendimento de carcaça, percebemos que há um acompanhamento crescente da deposição muscular conforme o aumento da dose de 25- hidroxicolecalciferol. A qualidade da carne também não interferiu nos níveis ou na ausência do produto, resultado importante, pois não alterou as características organolépticas e centesimais da carne. Para o crescimento muscular observado tanto pelo ultrassom da carcaça, quanto pela composição física da seção HH, notamos um comportamento ligeiramente positivo do produto em relação ao controle, pois todos os animais ganharam peso e tiveram um bom resultado. Em conclusão, no presente estudo, a maior proporção de tecido muscular nos animais que receberam o 25- hidroxicolecalciferol ligado ao olhar biológico através da expressão dos genes, além dos níveis plasmáticos de 25- hidroxicolecalciferol, cálcio plasmático e cálcio muscular, evidenciam a necessidade de estudos mais aprofundados que analisem a relevância dos níveis dos efeitos dessa suplementação com um aprofundamento abrangente em bovinos confinados.