

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

CASSIANO ALBINO LORENSETTI

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE PASTAGENS TEMPERADAS
ASSOCIADAS À LEGUMINOSA OU SUPLEMENTAÇÃO ENERGÉTICA NA
DIETA DE BOVINOS**

DISSERTAÇÃO

DOIS VIZINHOS

2016

CASSIANO ALBINO LORENSETTI

**AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE PASTAGENS TEMPERADAS
ASSOCIADAS À LEGUMINOSA OU SUPLEMENTAÇÃO ENERGÉTICA NA
DIETA DE BOVINOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Zootecnia – Área de Concentração: Produção e Nutrição Animal.

Orientador: Magali Floriano da Silveira

DOIS VIZINHOS
2016

L868a Lorensetti, Cassiano Albino.
Avaliação nutricional de pastagens temperadas associadas à leguminosa ou suplementação energética na dieta de bovinos – Dois Vizinhos: [s.n], 2016.
82f.:il.

Orientadora: Magali Floriano da Silveira
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Dois Vizinhos, 2016.
Inclui bibliografia

1. Bovino - Criação 2. Nutrição animal 3. Proteínas microbianas I. Silveira, Magali Floriano da orient. II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Dois Vizinhos III.Título.

CDD: 636.2

Ficha catalográfica elaborada por Rosana Oliveira da Silva CRB:9/1745



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Dois Vizinhos
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação n° 057

**Avaliação nutricional de pastagens temperadas associadas à leguminosa
ou suplementação energética na dieta de bovinos**

Cassiano Albino Lorensetti

Dissertação apresentada às quatorze horas e trinta minutos do dia vinte e seis de fevereiro de dois mil e dezesseis, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, Linha de Pesquisa – Produção e Nutrição Animal, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (Área de Concentração: Produção animal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Câmpus* Dois Vizinhos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho
. . .

Banca examinadora:

Magali Floriano da Silveira
UTFPR-DV

Fernanda Hentz
UFFS – Câmpus Chapecó

Roberta Farenzena
UTFPR-DV

Prof. Dr. Ricardo Yuji Sado
Coordenador do PPGZO

*A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus, pelo dom da vida e por ter me iluminado durante toda essa longa caminhada do mestrado.

Aos meus pais, Rosiléia Ferreira de Andrade Lorensetti e Jair Lorensetti, a minha irmã, Cassieli Lorensetti e a todos os meus familiares que me incentivaram e apoiaram nesse período de estudos.

À minha esposa, Janice Klein, pela dedicação em me fortalecer para continuar durante toda essa caminhada e por me apoiar, ajudar e confortar em todos os momentos de dificuldade.

Aos todos os professores da UTFPR que diretamente ou indiretamente contribuíram para a conclusão deste trabalho, em especial ao minha orientadora, Magali Floriano da Silveira, pela paciência, incentivo, ensinamentos e cobrança, além da minha Co-orientadora, Roberta Farenzena, que auxiliou em vários momentos de dúvidas durante esses dois anos de andamento do experimento e das análises laboratoriais.

A todos os alunos do Núcleo de Estudo e Pesquisa em Ruminantes (NEPRU), em especial aos colegas e alunos de graduação, Eduardo Felipe Lazzarotto, Gean Rodrigo Schmitz, Fernanda Stanqueviski, Gustavo Henrique Arend, Marcos Luís, João de Assis e Rose Rocha, aos bolsistas do laboratório Lucas Felipe Francisco e Ana Sordi, e aos colegas de mestrado Alberto Gagstetter, Marcio Simionatto e Andressa Michaillof, que auxiliaram diretamente na execução do experimento e análises laboratoriais.

A todos os servidores funcionários terceirizados dos setores de bovino de leite e corte e técnicos de campo da UTFPR que também auxiliaram na execução do experimento.

Aos amigos e colegas de mestrado pelo incentivo, apoio e conversas descontraídas durante esta longa trajetória.

A CAPES pela bolsa de auxílio concedida, durante o período do mestrado.

MUITO OBRIGADO!!!

LORENSETTI, Cassiano Albino. **Avaliação nutricional de pastagens temperadas associadas à leguminosa ou suplementação energética na dieta de bovinos**. 2016. 82 folhas. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2016.

RESUMO

O presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito das dietas: aveia, azevém e suplemento (AVAZS), aveia, azevém e ervilhaca (AVAZE) e aveia, azevém, ervilhaca e suplemento (AVAZES), no consumo de nutrientes, parâmetros ruminais e na síntese de proteína microbiana em bovinos. O experimento foi conduzido na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Dois Vizinhos, na Unidade de Ensino e Pesquisa (UNEPE) – Bovinocultura de Corte, durante os meses de junho à dezembro de 2014. O delineamento experimental foi um duplo Quadrado Latino 3 x 3 (3 dietas x 3 períodos), utilizando-se seis bovinos machos castrados, canulados no rúmen, com peso vivo médio de 350 kg. As amostras de forragem foram coletadas pelo método de simulação de pastejo. O consumo dos animais em pastejo foi determinado utilizando óxido de cromo. As coletas de líquido ruminal foram realizadas a cada duas horas no último dia de cada período experimental. As coletas de urina foram realizadas nos últimos cinco dias de cada período. O consumo de carboidratos não fibrosos (CCNF), o consumo de nutrientes digestíveis totais (CNDT), consumo de nitrogênio (CN), a retenção de nitrogênio (RN), a digestibilidade verdadeira do nitrogênio (DVN), a digestibilidade do nitrogênio (DN) e a eficiência de utilização do nitrogênio (EUN) variaram estatisticamente ($\alpha < 0,05$) para os bovinos alimentados com as diferentes dietas. O pH e a amônia foram superiores ($\alpha < 0,05$) para as dietas sem suplemento, já os açúcares totais, peptídeos e α -amino foram superiores ($\alpha < 0,05$) no tratamento contento leguminosa e suplemento. O pH, amônia e os açúcares totais variaram cubicamente em relação as horas do dia, já os peptídeos e os α -amino variaram linearmente. Os valores de síntese microbiana não variou significativamente ($\alpha > 0,05$). Bovinos mantidos em pastagens temperadas associadas à leguminosa e recebendo suplementação apresentam maior CCNF e CNDT. Já os bovinos não suplementados apresentam maior CN, melhor RN, maior DN, maior DVN e melhor EUN. Animais em pastejo exclusivo apresentam pH e amônia ruminal mais elevados, já bovinos recebendo suplementação e em consórcio com ervilhaca possuem teores de açúcares totais, peptídeos e α -amino superior as demais dietas.

Palavras-chave: Amônia, consumo de matéria seca, digestibilidade, síntese microbiana

LORENSETTI, Cassiano Albino. **Nutritional assessment of temperate grassland associated at clover or energetic supplementation in cattle dieting.** 2016. 82 pages. Dissertation (Master in Animal Science) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2016.

ABSTRACT

This study aims to evaluate the effect of diets: oats, ryegrass and supplement (AVAZS), oats, rye and vetch (AVAZE) and oats, ryegrass, vetch and supplement (AVAZES), consumption of nutrients, ruminal parameters and microbial protein synthesis in cattle. The experiment was conducted at the Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Dois Vizinhos, the Unit of Education and Research (UNEPE) - Cattle Court, during the months of June to December 2014. The experimental design was a double Latin square 3 x 3 (3 diets x 3 times), using six cattle steers, cannulated in the rumen, with average live weight of 350 kg. The forage samples were collected by the grazing simulation method. The consumption of grazing animals was determined using chromium oxide. The samples of rumen fluid were taken every two hours on the last day of each experimental period. Urine samples were taken in the last five days of each period. The consumption of non-fibrous carbohydrates (CCNF), the total digestible nutrients (CNDT), nitrogen consumption (CN), nitrogen retention (RN), the true digestibility of nitrogen (DVN), the digestibility of nitrogen (DN) and nitrogen use efficiency (NUE) varied statistically ($\alpha < 0.05$) for cattle fed different diets. The pH and ammonia were higher ($\alpha < 0.05$) for the diets without supplement, since total sugars, peptides and α -amino were higher ($\alpha < 0.05$) in treatment satisfaction and legume supplement. The pH, ammonia and total sugars varied cubically regarding hours of the day, as the peptides and α -amino varied linearly. The values of microbial synthesis did not differ significantly ($\alpha > 0.05$). Cattle kept in temperate grasslands associated with legumes and receiving supplementation have higher CCNF and CNDT. The non-supplemented cattle have higher CN, RN best, most DN greater DVN and better EUN. Animals exclusively grazing have pH and higher ruminal ammonia, since cattle receiving supplementation and intercropping with vetch have levels of total sugars, peptides and α -amino superior to other diets.

Keywords: Ammonia, dry matter intake, digestibility, microbial synthesis

LISTA DE TABELAS

Capítulo único: AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE PASTAGENS TEMPERADAS ASSOCIADAS À LEGUMINOSA OU SUPLEMENTAÇÃO ENERGÉTICA NA DIETA DE BOVINOS

Tabela 1: Composição química e digestibilidade *in vitro* das dietas experimentais, expressos em $g\ kg^{-1}$ (AVAZS=aveia, azevém e suplemento; AVAZE= aveia, azevém e ervilhaca; AVAZES= aveia, azevém, ervilhaca e suplemento)..... 33

Tabela 2: Estimativa do consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria orgânica (CMO), consumo de fibra em detergente neutro (CFDN), consumo de nutrientes digestíveis totais (CNDT) e consumo de carboidratos não fibrosos (CCNF) de novilhos nas dietas experimentais testadas (AVAZS=aveia, azevém e suplemento; AVAZE= aveia, azevém e ervilhaca; AVAZES= aveia, azevém, ervilhaca e suplemento)..... 38

Tabela 3: Consumo de nitrogênio (CN), retenção de nitrogênio (RN), digestibilidade de nitrogênio (DN), digestibilidade verdadeira do nitrogênio (DVN) e eficiência de utilização do nitrogênio (EUN) de bovinos alimentados com as dietas experimentais (AVAZS=aveia, azevém e suplemento; AVAZE= aveia, azevém e ervilhaca; AVAZES= aveia, azevém, ervilhaca e suplemento). 39

Tabela 4: Parâmetros ruminais de bovinos alimentados com as dietas experimentais (AVAZS=aveia, azevém e suplemento; AVAZE= aveia , azevém e ervilhaca; AVAZES= aveia, azevém, ervilhaca e suplemento). 42

Tabela 5: Valores de creatinina ($mg\ dL^{-1}$), produção urinária ($L\ d^{-1}$), alantoína ($mg\ kg^{0,75}$ e $mmol\ d^{-1}$), ácido úrico ($mg\ kg^{0,75}$ e $mmol\ d^{-1}$), purinas absorvidas ($mmol\ d^{-1}$) síntese de N e síntese de proteína microbiana (PM) ($g\ d^{-1}$) das dietas experimentais (AVAZS=aveia, azevém e suplemento; AVAZE= aveia , azevém e ervilhaca; AVAZES= aveia, azevém, ervilhaca e suplemento).....48

LISTA DE FIGURAS

Capítulo único: AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE PASTAGENS TEMPERADAS ASSOCIADAS À LEGUMINOSA OU SUPLEMENTAÇÃO ENERGÉTICA NA DIETA DE BOVINOS

Figura 01: Variação do pH ruminal ao longo de um período de 24 horas, em bovinos alimentados com pastagens temperadas associadas à leguminosa ou suplementação energética.....46

Figura 02: Variação das concentrações de amônia (a), açúcares totais (b), peptídeos (c) e α -amino (d) no fluido ruminal, ao longo de um período de 24 horas, em bovinos alimentados com pastagens temperadas associadas à leguminosa ou suplementação energética.....47

LISTA DE APÊNDICES

Capítulo único: AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE PASTAGENS TEMPERADAS ASSOCIADAS À LEGUMINOSA OU SUPLEMENTAÇÃO ENERGÉTICA NA DIETA DE BOVINOS

Apêndice A: Dados utilizados para análise estatística do consumo de nutrientes por dia (tabela 2).....	57
Apêndice B: Dados utilizados para análise estatística do balanço de N (tabela 3).....	58
Apêndice C: Dados utilizados para análise estatística dos parâmetros ruminais (tabela 4).....	59
Apêndice D: Dados utilizados para análise estatística da síntese microbiana (tabela 5).....	66

LISTA DE ANEXOS

Capítulo único: AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE PASTAGENS TEMPERADAS ASSOCIADAS À LEGUMINOSA OU SUPLEMENTAÇÃO ENERGÉTICA NA DIETA DE BOVINOS

Anexo A: Normas para publicação de artigos científicos da revista Brasileira de Zootecnia.....	68
--	----

Sumário	
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 Consumo de bovinos mantidos em pastagem de gramíneas temperadas consorciada com leguminosa	15
2.2 Consumo de bovinos à pasto recebendo suplementação	16
2.3 Fermentação ruminal de bovinos mantidos à pasto recebendo suplementação energética	19
2.4 Síntese microbiana e derivados de purina de bovinos mantidos em pastejo recebendo suplementação energética.....	21
2.5 Referências bibliográficas	23
3. DESENVOLVIMENTO	28
Resumo:.....	28
Introdução.....	29
Material e métodos	31
Resultados e Discussão	37
Conclusão	50
Referências	50
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
5. APÊNDICES	57
6. ANEXOS.....	68

1. INTRODUÇÃO

Os sistemas de produção de bovinos em todo mundo têm sido repensados não só em termos de produtividade, mas principalmente no sentido da qualidade alimentar dos consumidores, sustentabilidade ambiental e econômica desses sistemas. O Brasil, em especial a região Sul, apresenta grande potencial para intensificação da produção animal a pasto pela possibilidade de explorar o potencial produtivo das gramíneas tropicais perenes e forrageiras temperadas durante o inverno (Skonieski et al., 2011).

A sustentabilidade dos sistemas pastoris pode ser melhorada com a utilização do consórcio de leguminosas com gramíneas, que reduz os gastos com aplicação de fertilizantes químicos ou orgânicos, aumenta a quantidade de forragem, devido à fixação de nitrogênio da leguminosa, que será utilizado pela gramínea consorciada, melhora a qualidade bromatológica e a diversificação da massa de pasto consumida pelos animais, e aumenta também o período de utilização (Barcellos et al., 2008). Outros aspectos favoráveis do uso das leguminosas são a melhoria das condições físicas e químicas do solo e a ciclagem de nutrientes.

As forrageiras temperadas, como a aveia e o azevém, apresentam bons índices de produção de matéria seca (MS), sendo assim, as espécies mais cultivadas na região sul do país. Estas espécies apresentam ótima qualidade nutricional, com elevada digestibilidade e altos teores de nitrogênio (N) degradável no rúmen que pode ser perdido e excretado via urina. Assim, a suplementação energética disponibiliza maior quantidade de carboidratos não fibrosos para o rúmen e com isso aumenta a eficiência do uso do N da pastagem e melhora o desempenho dos animais (Silveira et al., 2006) pela oferta suplementar de nutrientes.

Segundo Oliveira et al. (2005) a variação do pH ruminal é influenciado pela produção de saliva, que ocorre durante os processos de ingestão e regurgitação, portanto animais mantidos em pastejo normalmente apresentam pH ruminal sempre próximo à neutralidade, devido aos alimentos volumosos proporcionarem maior taxa de regurgitação, no entanto, dietas com um alto teor protéico (32,26%) acarreta em um aumento do pH ruminal de 6,34 para 6,60. Já animais recebendo suplementação energética podem ter uma queda expressiva no pH ruminal, podendo levar a distúrbios metabólicos ou alterações nos parâmetros ruminais, podendo levar a queda de produção.

A síntese microbiana é produto do ajuste da energia fermentescível, obtida na fermentação de carboidratos no rúmen e do ajuste do nitrogênio na forma de amônia presente no rúmen, resultante tanto da fermentação da proteína bruta verdadeira (PBv), bem como do nitrogênio não-protéico (NNP). Quando a hidrólise das proteínas alimentares ultrapassar a capacidade de assimilação de nitrogênio pelos microrganismos, que acontece com dietas altamente protéicas, ocorre um acúmulo de amônia no líquido ruminal, que é absorvido pelo epitélio ruminal, metabolizado no fígado e convertida em uréia, podendo ser reciclada pela saliva ou excretada e perdida na urina (AFRC 1993).

Oliveira et al. (2005) observou que em dietas com baixo (17,06%) e alto (32,26%) teores protéicos a produção de proteína microbiana não diferiu estatisticamente, variando de 2.087,65 a 2.234,95 mg L⁻¹, respectivamente, no entanto influenciou na produção de amônia no rúmen, variando de 7,93 para 16,24 mg dL⁻¹, em dietas com baixa e alta proteína, respectivamente.

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito das dietas: aveia, azevém e suplemento (AVAZS), aveia, azevém e ervilhaca (AVAZE) e aveia, azevém, ervilhaca e suplemento (AVAZES), sobre o consumo de nutrientes, parâmetros ruminiais e síntese de proteína microbiana em bovinos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Consumo de bovinos mantidos em pastagem de gramíneas temperadas consorciada com leguminosa

As pastagens são o principal componente de alimentação dos rebanhos bovinos no Brasil. Uma alternativa que vem trazendo retorno para a pecuária no Brasil é o consócio de pastagens, em que há inclusão de leguminosas em pastagens de gramíneas, este consócio está sendo muito utilizado, pois proporciona aumentos na qualidade proteica e gera uma diversificação da pastagem, ainda podendo diminuir o gasto com a aplicação de fertilizantes, devido a incorporação de N promovida pelas leguminosas através da reciclagem, e ainda aumentando o período de utilização da pastagem (Skonieski et al., 2011).

Na região Sul do país a aveia e o azevém, são as principais pastagens utilizadas no inverno que geralmente têm melhorado o desempenho animal por aumentar o consumo total de alimento, quando consorciadas com leguminosas. A ervilhaca é utilizada por possuir a capacidade, assim como outras leguminosas, de fixar o nitrogênio atmosférico no solo, através da simbiose com bactérias presentes nos rizomas das raízes e melhorar a qualidade nutricional da massa de forragem ofertada (Ribeiro Filho et al., 2003), devido a alta digestibilidade, que resulta em maior taxa de passagem, portanto aumento do CMS (Jaturasitha et al., 2009). Hirai et al. (2014) em estudo realizado com aveia e ervilhaca consorciada não identificaram variações na produção de massa de forragem, no entanto, a carga animal aumentou com a presença da ervilhaca, mostrando que a carga animal aumentou devido o maior valor nutricional do consócio. Roso et al. (2009) mostra que o ganho de peso de animais em pastagem de gramíneas e leguminosa consorciada no inverno no sul do país aumenta em 24,6% o ganho médio diário (GMD) em relação ao dos animais mantidos na pastagem de azevém exclusivo.

Oliveira et al. (2005) mostraram que o CMS não difere quando testaram teores baixo e alto de PB na dieta de bovinos, obtendo 110,11 e 107,59 g kg PV^{0,75}, ou seja 2,33 e 2,27 de CMS %PV, respectivamente. Já Roso et al. (2009) avaliando recria de novilhas em pastagem de avevem, com ou sem suplementação, observaram um CMS %PV de 3,5 e 3,6,

respectivamente, mostrando que a suplementação em pastagens anuais de inverno não altera o CMS.

Pastagens temperadas consorciadas com leguminosas apresentam valor nutricional elevado, em que os teores de digestibilidade e de proteína bruta são ótimos, portanto animais que consomem pastagem que contém leguminosa na forma de consórcio com gramíneas, apresentam uma alta taxa de passagem (Jaturasitha et al., 2009).

Para estimarmos o consumo de bovinos existem duas maneiras distintas, sendo a primeira através da mensuração do total de alimento fornecido, basicamente utilizado em sistemas confinados, e outra através de marcadores, utilizado em sistemas extensivos a pasto. Os marcadores são classificados em internos, que estão ligados diretamente ao alimento, e externos que podem ser adicionados ao alimento ou dosados separadamente para o animal (Lippke, 2002). De acordo com Cavalcante et al. (2006) em sistemas de pastejo o método mais utilizado para obtenção do consumo de pasto e da taxa de passagem é a dosagem de óxido de cromo como indicador.

Para Kobb & Lukcey (1972) um marcador ideal deve ser inerte e não tóxico, possuir efeito fisiológicos que não altere o metabolismo do trato alimentar, seja uniforme no bolo alimentar, não influencie na secreção, digestão, absorção e mantenha normal a mobilidade do trato digestivo, não influencie a microflora e que tenha confiança e precisão nas mensurações do processo.

Segundo Morenz et al. (2006) a metodologia do óxido de cromo/digestibilidade *in vitro*, possui vantagens como a relativa simplicidade dos procedimentos analíticos e o baixo custo, em relação ao uso de *n*-alcanos como marcadores, que possuem um maior custo e possibilita erros devido ao detalhamento da forma com que se realiza a análise, para se obter o valor de CMS.

2.2 Consumo de bovinos à pasto recebendo suplementação

No estágio vegetativo, pastagens temperadas apresentar altos teores de proteína solúvel e nitrogênio não proteico (NNP) (Jaturasitha et al., 2009). Deste modo, animais que consomem esta pastagem têm uma alta produção de amônia no rúmen, sendo excretada em

forma de ureia na urina. Nesta situação, a suplementação energética, com carboidratos de rápida fermentação podem melhorar o desempenho dos animais, pelo fato de melhorar a utilização do nitrogênio da forragem, o que gera um aumento na população microbiana, e consequentemente um aumento na produção de proteína microbiana (NRC, 2001). Em casos onde a suplementação energética é alta pode ocorrer efeitos substitutivos, aditivos ou ainda depressivos no consumo da forragem (Maciel et al., 2014).

A suplementação é necessária para alcançar níveis aceitáveis na produção de ruminantes com dietas a base de forragens, sendo que o tipo de pastagem e de suplemento variam consideravelmente. A gramínea temperada tem uma maior digestibilidade e maior conteúdo total e solúvel de nitrogênio (N), que representa um maior teor de proteína bruta (PB), em relação às pastagens tropicais, deste modo proporcionando maior quantidade de amônia para as bactérias ruminais, e de α -amino no intestino delgado, quando adicionado uma fonte de carboidrato não fibroso (CNF) (Amaral et al., 2010).

Jaturasitha et al. (2009) ressaltam que em pastagens temperadas com a inclusão de leguminosas, podem provocar aumento do tamanho do fígado, causado pelo aumento da proteína disponível na dieta, que quando está em excesso, parte é excretada pelo animal e o restante é desviado para o fígado para o metabolismo de síntese de energia. Isso diminui a eficiência animal, portanto o uso de suplementação energética é importante para melhorar a relação de energia e proteína, aumentando o desempenho animal.

A relação de energia e proteína tem principal reflexo na síntese microbiana, que é a unidade principal de produção de nutrientes para um ruminante. A produção de massa microbiana no rúmen é reflexo da energia fermentescível, obtida na fermentação de carboidratos fibrosos (CF) e de CNF pelas bactérias ruminais no rúmen e da assimilação do nitrogênio na forma de amônia presente no rúmen, resultante tanto da fermentação da proteína bruta verdadeira (PBv), bem como do nitrogênio não-proteico (NNP). Quando a hidrólise das proteínas alimentares ou digestão dos carboidratos alimentares ultrapassarem a capacidade de assimilação pelos microrganismos, ou seja, quando a quantidade de um nutriente for superior a quantidade de outro na dieta, ocorre um acúmulo de um dos nutrientes que pode ser reciclado, no caso da proteína, excretado e perdido no caso da proteína e da energia, resultando em perdas de desempenho (AFRC 1993; NRC 1996; NRC 2001).

Roso et al. (2009) comentam que o desempenho de animais em pastagem de gramíneas temperadas é melhor quando recebem suplemento, em comparação ao daqueles

na pastagem exclusiva. Este mesmo autor mostra em seu trabalho que a suplementação dos animais em pastejo permitiu aumento de 34,5% no GMD em relação àqueles animais mantidos em pastejo de azevém sem suplemento. Isso pode ser explicado pelo fato de haver um maior CMS, que é resultado da taxa de adição do consumo do suplemento ao consumo de matéria seca do pasto. Esse efeito aditivo do suplemento sobre o consumo total de MS pode chegar a 83,3%, permitindo um maior ganho de peso em relação aos animais que se alimentam exclusivamente de gramíneas ou gramíneas consorciadas com leguminosas. Neste cenário o valor da taxa de substituição do consumo de pasto pelo consumo de suplemento é considerado pequeno. Animais que recebem suplemento ingerem maior quantidade de matéria seca e, conseqüentemente, o aporte energético é maior.

O efeito aditivo de consumo ocorre quando há um aumento na administração da proteína degradável no rúmen (PDR), que pode estar associada ao aumento na taxa de passagem, ocasionada pela presença do concentrado (Maciel et al., 2014). Suplementações fornecidas em 1% do PV podem aumentar a capacidade de suporte da carga animal em até 32% (Maciel et al., 2014), porém o excesso de concentrado pode gerar uma queda no pH ruminal, que também tem forte influência no CMS (Drewnoski & Poore, 2015).

Em situações em que o fornecimento de suplemento passa a constituir mais de 25% da dieta total, pode-se observar, geralmente, redução no consumo total de forragem, característica de ingestão denominada de efeito substitutivo e a ocorrência deste efeito dependerá da disponibilidade em quantidade e qualidade da pastagem oferecida. No entanto, o valor de consumo de FDN em animais que recebem suplemento pode aumentar (Drewnoski & Poore, 2015) em até 1,3% do PV d^{-1} (Ribeiro et al., 2005), sendo que o recomendado por Mertens (1987) é de 1% do PV d^{-1} , para animais em crescimento.

Bovinos em crescimento quando estão em pastejo, quando suplementados, geralmente consomem suplemento em 1% do PV d^{-1} ou superior. Outro fator que a suplementação energética pode influenciar é a redução da proteína degradável no rúmen (PDR), redução do NDT da dieta, causar efeitos associativos negativos sobre digestão da fibra e causar diminuição do pH (Drewnoski & Poore, 2015).

2.3 Fermentação ruminal de bovinos mantidos à pasto recebendo suplementação energética

O desempenho dos animais no inverno em pastagens temperadas de aveia, azevém e ervilhaca é alto, porém com o excesso de proteína dessas pastagens o incremento de um alimento de fonte energética é interessante, além de evitar o desperdício de nutrientes (Silveira et al., 2006). O excesso de proteína na dieta, e a falta de energia, ou o inverso, podem levar a alguns desbalanços ruminais, prejudicando o crescimento da microbiota (Amaral et al., 2010). Dentre eles, o desbalanço das concentrações de amônia, peptídeos, α -amino e de açúcares totais, que é gerado pelo excesso de nitrogênio no rúmen, além da excreção de nitrogênio na urina, tornando o sistema de produção oneroso. Com a adição de alimento energético, que fornece os esqueletos de carbono para o desenvolvimento microbiano, ocorre uma diminuição nessas perdas de N e no dos nutrientes formados no rúmen, porém pode ocorrer uma queda no pH ruminal, que também pode alterar os metabólitos formados a nível ruminal, quando fornecido concentrado em excesso (Silveira et al., 2006).

Tem sido sugerido que a redução do pH tem impacto sobre a fermentação ruminal, que é dependente não somente da diminuição do pH, mas também da quantidade de tempo que o pH ruminal fica abaixo do ideal para que a fermentação ruminal esteja em perfeito equilíbrio. A combinação de acidez ruminal, resultante da diminuição do pH, o preenchimento e o feedback da absorção metabólica de ácidos graxos voláteis (AGV) em animais suplementados, causa forte diminuição na ingestão de volumoso (Drewnoski & Poore, 2015).

O excesso de proteína degradável no rúmen (PDR) na dieta acarreta em uma quantidade de amônia no ambiente anaeróbico ruminal que excede a capacidade de utilização da PDR pela microbiota ruminal. No rúmen, a amônia é absorvida para a corrente sanguínea, onde é convertida em ureia para ser eliminada do organismo ou reutilizada através da saliva. Esses dois processos geram gasto de energia para eliminar o N-amoniacal. Nesse sentido a utilização de fontes de PDR associadas a fontes de carboidratos de alta degradabilidade ruminal permite uma maior eficiência no processo microbiano de fixação da amônia na forma de glutamato, diminuindo as perdas de nitrogênio e energia (Caldas Neto et al., 2008).

Na obtenção da concentração de amônia ou N-amoniacal ruminal pode-se avaliar a relação energia: proteína da dieta. As elevadas concentrações de amônia estão relacionadas ao excesso de proteína degradada no rúmen ou a mínima concentração de carboidratos degradados no rúmen. São vários os relatos sobre a mínima concentração da amônia presente no rúmen, para que não haja limitação na síntese microbiana. No entanto, o excesso de N-amoniacal formado no rúmen, pode acarretar toxicidade e constitui desperdício energético, pelo fato de gastar energia na excreção do nitrogênio do organismo (Cavalcante et al., 2006). Van Soest (1994) relata que o nível ideal de amônia no fluido ruminal é de 10 mg dL^{-1} , para uma melhor atividade fermentativa, mas Satter & Slyter (1974), ressaltam que esta atividade pode ser limitada se os teores de amônia forem menores que 5 mg dL^{-1} .

A nutrição proteica em ruminantes, atualmente tem sido abordada considerando as exigências dos microrganismos ruminais quanto à PDR e aos esqueletos de carbono, proveniente dos carboidratos, para seu máximo crescimento (NRC, 1996). A PDR pode ser descrita como a fração que contem o nitrogênio não proteico (NNP) e a proteína verdadeira, estas descritas como frações B₁, B₂ e B₃, sendo que as bactérias ruminais digerem a PDR resultando em produtos como α -amino e N-amoniacal, que são as fontes para crescimento microbiano e formação da proteína microbiana (PMic), que será absorvida pelo epitélio do intestino delgado (NRC, 2001). São vários os fatores que afetam a degradabilidade da massa ruminal, incluindo o pH, N-amoniacal, taxa de passagem (kp) e a taxa de degradação (kd) da massa de forragem presente no rúmen, sendo que mudanças bruscas no pH ruminal podem diminuir ou parar a atividade dos microrganismos que fazem a digestão, além de níveis baixos de N-amoniacal no rúmen podem limitar a fermentação adequada da digesta (Franco et al., 2004).

Segundo Bailey et al. (2012) a concentração de ureia através do epitélio ruminal é parte integrante da reciclagem, visto que a ureia circulante no sangue segue para o lúmen ruminal sem gasto de energia. O transporte da ureia também é sensível ao pH do lúmen ruminal, sendo que na faixa de 6,2 a 6,6 o transporte passivo é facilitado, portanto quando o pH for inferior ou superior aos valores citados, o transporte fica dificultado. Esta regulação de curto prazo de ureia na forma de transporte do sangue para o lúmen do órgão aumenta a reciclagem de ureia, quando as necessidades microbianas para N são maiores. Mould & Orskov (1983), relataram que a atividade fermentativa pode ser prejudicada

quando o pH for abaixo de 6,0, já Smith et al. (1972), relata que as variações entre 6,0 e 6,8 no pH ruminal fornece uma máxima atividade de organismos celulolíticos.

2.4 Síntese microbiana e derivados de purina de bovinos mantidos em pastejo recebendo suplementação energética

Os ruminantes têm a capacidade peculiar de ingerir, processar e aproveitar alimentos fibrosos. Este processo é dependente da fermentação ruminal realizada em especial pelas bactérias celulolíticas, que requerem energia e proteína em quantidade e qualidade adequada para a sua exigência metabólica para hidrólise e digestão das moléculas (Bezerra et al., 2010).

Após a digestão intestinal dos nucleotídeos de purinas, as bases nitrogenadas adenina e guanina são catabolizadas e excretadas proporcionalmente na urina como derivados de purina (DP), principalmente na forma de alantoína, mas também como xantina, hipoxantina e ácido úrico. Para o método de avaliação da excreção dos DP, assume-se que o fluxo duodenal de ácidos nucléicos é predominantemente de origem da síntese microbiana ruminal (SMR)(Chen & Gomes, 1992), que está extremamente correlacionada com a proteína microbiana (PMic) formada, que por sua vez é responsável por mais de 50% dos α -amino absorvidos no intestino delgado (AFRC, 1992).

Assume-se que há uma alta relação entre a quantidade de proteína microbiana formada e a excreção urinária na forma de derivados de purina: alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina (Ojeda et al., 2005). A excreção de xantina e hipoxantina é muito pequena em bovinos, e não necessita ser determinada para a estimativa da excreção urinária de derivados de purinas, assim pode-se basear apenas em alantoína e ácido úrico (Rennó et al., 2008). Leal et al. (2007) em seus experimentos observaram que a excreção de alantoína representa 92,2%, do total de derivados de purinas excretados. Estes valores sugerem que a excreção de alantoína constitui um bom parâmetro para representar a excreção de derivados de purina, visando à estimativa da produção de proteína microbiana.

Já está confirmada a relação existente entre produção de proteína microbiana e excreção urinária de derivados de purinas. Isto porque os ácidos nucléicos são de origem predominantemente microbiana, que após a digestão intestinal e posterior absorção, os

derivados de purinas dos ácidos nucleicos são proporcionalmente recuperados na urina, principalmente na forma de alantoína e ácido úrico (Rennó et al., 2008).

A coleta total de urina, como forma de tentar avaliar a quantidade de PMic formada, pode ser uma prática a ser considerada, mas, no entanto, acaba sendo uma técnica difícil de ser realizada devido ao desconforto causado por equipamentos utilizados na coleta total de urina em bovinos mantidos em pastejo. Neste contexto, na tentativa de simplificar a obtenção de dados experimentais e eliminar o desconforto, tem-se utilizado o método de coleta pontual de urina ou *spot*, que visa determinar os níveis de creatinina excretada na urina, a fim de estimar o volume urinário total (Kozloski et al., 2005)

Oliveira et al. (2007) e Leal et al. (2007) utilizaram a creatinina como marcador para estimativa do volume urinário em vacas leiteiras e machos holandeses castrados, respectivamente, com coleta *spot* de urina, e concluíram que o volume urinário pode ser estimado com este tipo de coleta, que possibilita avaliar a excreção de derivados de purina e de outros compostos sem a necessidade da coleta total de urina. A excreção diária de creatinina por kg de PV é representada por um valor fixo médio calculado de 27 mg kg PV⁻¹, valor elucidado por vários autores (Rennó et al., 2000; Leal et al., 2007; Braga et al., 2012).

Posada et al. (2012) relatam que a creatinina é um produto metabólico não utilizado para formar novas moléculas no organismo do animal, portanto é eliminado pelos rins em quantidade diária e constante, devido a remoção da água do fosfato de creatina presente nos músculos, sendo que essa excreção está intimamente relacionada ao peso corporal.

Braga et al. (2012) mostraram em seu trabalho com novilhas nelore, com massa corporal de 300 kg e um consumo crescente de 10,0; 13,9; 17,5 e 21,0 g kg PV⁻¹, uma PMic formada de 41,08; 41,87; 61,63 e 65,90 g d⁻¹, respectivamente, mostrando um resultado linear para a PMic, assim como para alantoína, ácido úrico, e conseqüentemente para total de derivados de purina e purinas absorvidas, comprovando que ao aumentar o consumo dos nutrientes, ocorre um aumento na produção de PMic. Oliveira et al. (2007) trabalhando com vacas leiteiras e níveis de inclusão de palma forrageira (0,0; 12,0; 25,0; 38,0 e 51,0), mantendo uma média de 15% de PB na dieta, não encontraram diferença para produção de PMic (1.186,91; 1.579,04; 1.514,25; 1.275,30 e 1.324,87 g d⁻¹, respectivamente), e também para alantoína, ácido úrico, derivados de purina e purinas absorvidas.

2.5 Referências bibliográficas

Agricultural and Food Research Council - AFRC. **Energy and protein requirements of ruminants**. An advisory manual prepared by the AFRC. Technical Committee on Responses to Nutrients. CAB International, p.159, 1993.

Agriculture and Food Research Council - AFRC. Technical committee on responses to nutrients. Nutritive requirements of ruminant animal: protein. **Nutrition Abstracts and Reviews Series B**. N.62, p.787-835, 1992.

AMARAL, G.A.; KOZLOSKI, G.V.; SANTOS, A. B.; CASTAGNINO, D. S.; FLUCK, A.C.; FARENZENA, R.; ALVES, T. P.; MESQUITA, F. R. Metabolizable protein and energy supply in lambs fed annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) supplemented with sources of protein and energy. **Journal of Agricultural Science**, v.149, p.519-527, 2010.

BAILEY, E. A.; TITGEMEYER, E. C.; OLSON, K. C.; BRAKE, D. W.; JONES, M. L.; ANDERSON, D. E. Effects of supplemental energy and protein on forage digestion and urea kinetics in growing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.90, p.3492-3504, 2012.

BARCELLOS, A.O.; RAMOS, A.K.B.; VILELA, L. Sustentabilidade da produção animal baseada em pastagens consorciadas e no emprego de leguminosas exclusivas, na forma de banco de proteína, nos trópicos brasileiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.51-67, 2008.

BEZERRA, R.; GONZAGA NETO, S.; OLIVEIRA, J. S.; SANTOS, E. M.; SILVA, A. M. A. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purina. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v.6, n.3 p. 07-14, 2010.

BRAGA, J. M. S.; VALADARES, R. F. D.; PELLIZZONI, S. G.; VALADARES FILHO, S. C.; PRATES, L. L.; COSTA E SILVA, L. F. Estimation of endogenous contribution and urinary excretion of purine derivatives from the total digestible nutrient intake in Nellore heifers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.8, p.1899-1906, 2012.

CALDAS NETO, S. F.; ZEOULA, L. M.; PRADO, I. N.; BRANCO, A. F.; KAZAMA, R.; GERON, L. J. V.; MAEDA, E. M.; FERELI, F. Proteína degradável no rúmen na dieta de bovinos: digestibilidades total e parcial dos nutrientes e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.6, p.1094-1102, 2008.

CAPPELLOZZA, B.I; COOKE, R.F; GUARNIERI FILHO, T.A; BOHNERT, D.W. Supplementation based on protein or energy ingredients to beef cattle consuming low-quality cool-season forages: I. Forage disappearance parameters in rumen-fistulated steers and physiological responses in pregnant heifers. **Journal of Animal Science**,v.92, p. 2716-2724, 2014.

CAVALCANTE, M. A. B.; PEREIRA, O. G.; VALADARES FILHO, S. C.; RIBEIRO, K. G.; PACHECO, L. B. B.; ARAÚJO, D.; LEMOS, V. M.C. Níveis de proteína bruta em dietas para bovinos de corte: parâmetros ruminiais, balanço de compostos nitrogenados e produção de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**,v.35, n.1, p.203-210, 2006.

CHEN X.B.; GOMES M.J. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives-an overview of technical details. **International Feed Research Unit Rowett Research Institute. Aberdeen, UK.** (ocasional publication), p.21, 1992.

DREWNOSKI, M. E. AND POORE M. H. Effects of supplementation frequency on ruminal fermentation and digestion by steers fed medium-quality hay and supplemented with a soybean hull and corn gluten feed blend. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 881-891, 2015.

FRANCO, A. V. M.; FRANCO, G. L.; ANDRADE P. Parâmetros Ruminiais e Desaparecimento da MS, PB e FDN da Forragem em Bovinos Suplementados em Pastagem na Estação Seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.5, p.1316-1324,2004.

GOES, R. H. T. B.; MANCIO, A. B.; LANA, R. P.; LEÃO, M. I.; ALVES, D. D.; SILVA, A. T. F. Recria de Novilhos Mestiços em Pastagem de *Brachiaria brizantha*, com Diferentes Níveis de Suplementação, na Região Amazônica. Consumo e Parâmetros Ruminiais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1730-1739, 2005.

HIRAI, M.M.G. MENEZES, L. F. G.; KUSS, F.; VONZ, D.; RONSANI R.; MARTINELLO, C. NAZÁRIO, D.; SEGABINAZZI, L. R. Características de carcaça e qualidade da carne de novilhos terminados em pastagem de aveia branca. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 35, n. 4, suplemento, p. 2617-2628,2014.

JATURASITHA ,S.; NORKEAW,R.; VEARASILP, T.; WICKE, M.; KREUZER M. Carcass and meat quality of Thain ative cattle fattened on Guinea grass (*Panicum maxima*) or Guinea grass–legume (*Stylosanthes guianensis*) pastures. **Meat Science**, n.81, p.155–162, 2009.

KOBT, A. R.; LUCKEY, T. D. Markes in nutrition. **Journal Nutrition Abstracts and Reviews**. v. 42, p. 813-845,1972.

KOZLOSKI, G. V.; FIORENTINI, G.; HÄRTER, C. J.; SANCHEZ, L. M. B. Uso da creatinina como indicador da excreção urinária em ovinos. **Ciência Rural**, v.35, n.1, p.98-102, 2005.

LEAL, T. L.; VALADARES, R. F. D VALADARES FILHO, S. C.; LEÃO, M. I.; DETMANN, E.; BARBOSA, A. M.; CHIZZOTTI, M. L.; PAIXÃO, M. L. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.896-904, 2007.

LIPPKE, H. Forage & Grazing lands: Estimation of forage intake by ruminants on pasture. **Crop Science**, v. 42, p. 869-872, 2002.

MACIEL, M. S.; SANTANA JÚNIOR, H. A.; SANTANA, E. O. C.; FERREIRA, A. H. C.; FIGUEIREDO, C. B.; OLIVEIRA, Z. F.; CARDOSO, E. S.; CARVALHO, M. E. L.; ABREU FILHO, G. Avaliação dos efeitos associativos da interação forragem suplemento de bovinos em pastejo. **Revista eletrônica nutritime**, v. 11, n. 06, p. 3799– 3809, 2014.

MERTENS, D.R. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. **Journal of Animal Science**, v.64, n.6, 1548-1558,1987.

MOULD, F.L.; ORSKOV, E.R. Manipulation of the rumen fluid pH and its influence on cellulose in sacco, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate. **Animal Feed Science Technology**, v.10, p.1-14, 1983.

MORENZ, M. J. F.; SILVA, J. F. C.; AROEIRA, L. J. M.; DERESZ, F.; VÁSQUEZ, H. M.; PACIULLO, D. S. C.; LOPES, F. C. F.; ELYAS, A. C. W.; DETMANN, E. Óxido de cromo e n-alcanos na estimativa do consumo de forragem de vacas em lactação em condições de pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia** v.35, n.4, p.1535-1542, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL- NRC. Nutrient requirements of beef cattle.7.ed. Washington: **National Academic Press**. 242p, 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL- NRC. Nutrient requirements of dairy cattle.7th. ed.Washington: **National Academy Press**, 381p, 2001

NETO, S. F. C.; ZEOULA, L.M.; PRADO, I. N.; BRANCO, A. F.; KAZAMA, R.; GERON, L. V. G.; MAEDA, E. M.; FERELI, F. Proteína degradável no rúmen na dieta de bovinos: digestibilidades total e parcial dos nutrientes e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.6, p.1094-1102, 2008.

OLIVEIRA, M. V. M.; LANA, R. P.; JHAM, G. N.; PEREIRA, J. C.; PÉREZ, J. R. O.; VALADARES FILHO, S. C. Influência da Monensina no Consumo e na Fermentação Ruminal em Bovinos Recebendo Dietas com Teores Baixo e Alto de Proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1763-1774,2005.

OLIVEIRA, V. S.; FERREIRA, M. S.; GUIM, A.; MODESTO, E. C.; LIMA, L. E.; SILVA, F. M. Substituição do milho e do feno de capim-tifton por palma forrageira. Produção de proteína microbiana e excreção de uréia e de derivados de purina em vacas lactantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.936-944, 2007.

OJEDA, A.; PARRA, O.; BARCELLS, J. Urinary excretion of purine derivative in Bos indicus x Bos Taurus cross bred cattle. **British Journal of Nutrition, Cambridge**, v.93, n.6, p.821-828, 2005.

POSADA, S. L.; NOGUERA, R. R.; RODRÍGUEZ, N. M.; BORGES, A. L. Creatinine used as an indicator of urinary excretion in Nelore cattle. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v.25, p.56-63, 2012.

RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I.;VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C.; CECON,P . R.; DIAS, H. L .C.; COSTA, M. A. L.; OLIVEIRA, R. V. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purina na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1223-1234, 2000.

RENNÓ, L. N.; VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, M. F.; LEÃO, M. I.; VALADARES, R. F. D.; RENNO, F. D.; MÔNICA LOPES PAIXÃO, M. L. Níveis de uréia na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: parâmetros ruminais, uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.556-562, 2008.

RIBEIRO FILHO, H. M. N.; DELAGARDE, R.; PEYRAUD, J. L. Inclusion of white clover in strip-grazed perennial ryegrass swards: Herbage intake and milk yield of dairy cows at different ages of sward regrowth. **Animal Science**, v.77, p. 499-510, 2003.

RIBEIRO, M. D.; PEREIRA, J. C.; VIEIRA, R. A. M.; PACHECO, B. M.; LEONEL, F. P. Consumo e Desempenho de Novilhas em Pastagem Recebendo Suplementos com

Diferentes Níveis de Proteína Não-Degradável no Rúmen. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2486-2495, (supl.), 2005.

ROSO,D.; ROCHA, M. G.; PÖTTER, L.; GLIENKE, C. L.; COSTA, V. G.; ILHA, G. F. Recria de bezerras de corte em alternativas de uso da pastagem de azevém. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.2, p.240-248, 2009.

SILVEIRA, M. F.; KOZLOSKI, G. V.; BRONDANI, I. L.;FILHO, D. C. A.; RESTLE, J.; LEITE, D. T.; METZ, P. A. M.; SILVEIRA, S. R. L. Ganho de peso vivo e fermentação ruminal em novilhos mantidos em pastagem cultivada de clima temperado e recebendo diferentes suplementos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.3, p.898-903,2006.

SATTER, L. D.; SLYTER, L. L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal Nutrition** v.32, p.199-208,1974.

SMITH, L. W.; GOERING, M. K.; GORDON, C. H. Relationship of forage compositions with rates of cell wall digestion and indigestibility of cell walls. **Journal of Dairy Science**, v.55, n.8, p.1140-1148, 1972.

SKONIESKI, F. R; VIÉGAS, J; BERMUDEZ, R.F; NÖRNBERG, J.L; ZIECH, M.F; COSTA, O. A. D; MEINERZ, G.R. Composição botânica e estrutural e valor nutricional de pastagens de azevém consorciadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.3, p.550-556, 2011.

Van SOEST, P.J. **Nutrition ecology of the ruminant**. Ithaca: Comstock Publishing Associates, p.476, 1994.

3. DESENVOLVIMENTO

O desenvolvimento desta dissertação será apresentado em capítulo único, em forma de artigo científico, de acordo com as normas de formatação da Revista Brasileira de Zootecnia, conforme anexo A.

CAPÍTULO ÚNICO: AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DE PASTAGENS TEMPERADAS ASSOCIADAS À LEGUMINOSA OU SUPLEMENTAÇÃO ENERGÉTICA NA DIETA DE BOVINOS

Resumo: O presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito das dietas: aveia, azevém e suplemento (AVAZS), aveia, azevém e ervilhaca (AVAZE) e aveia, azevém, ervilhaca e suplemento (AVAZES), no consumo de nutrientes, parâmetros ruminais e na síntese de proteína microbiana em bovinos. O experimento foi conduzido na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Dois Vizinhos, na Unidade de Ensino e Pesquisa (UNEPE) – Bovinocultura de Corte, durante os meses de junho à dezembro de 2014. O delineamento experimental foi um duplo Quadrado Latino 3 x 3 (3 dietas x 3 períodos), utilizando-se seis bovinos machos castrados, canulados no rúmen, com peso vivo médio de 350 kg. As amostras de forragem foram coletadas pelo método de simulação de pastejo. O consumo dos animais em pastejo foi determinado utilizando óxido de cromo. As coletas de líquido ruminal foram realizadas a cada duas horas no último dia de cada período experimental. As coletas de urina foram realizadas nos últimos cinco dias de cada período. O consumo de carboidratos não fibrosos (CCNF), o consumo de nutrientes digestíveis totais (CNDT), consumo de nitrogênio (CN), a retenção de nitrogênio (RN), a digestibilidade verdadeira do nitrogênio (DVN), a digestibilidade do nitrogênio (DN) e a eficiência de utilização do nitrogênio (EUN) variaram estatisticamente ($\alpha < 0,05$) para os bovinos alimentados com as diferentes dietas. O pH e a amônia foram superiores ($\alpha < 0,05$) para as dietas sem suplemento, já os açúcares totais, peptídeos e α -amino foram superiores ($\alpha < 0,05$) no tratamento contendo leguminosa e suplemento. O pH, amônia e os açúcares totais variaram cubicamente em relação as horas do dia, já os

peptídeos e os α -amino variaram linearmente. Os valores de síntese microbiana não variou significativamente ($\alpha > 0,05$). Bovinos mantidos em pastagens temperadas associadas à leguminosa e recebendo suplementação apresentam maior CCNF e CNDT. Já os bovinos não suplementados apresentam maior CN, melhor RN, maior DN, maior DVN e melhor EUN. Animais em pastejo exclusivo apresentam pH e amônia ruminal mais elevados, já bovinos recebendo suplementação e em consórcio com ervilhaca possuem teores de açúcares totais, peptídeos e α -amino superior as demais dietas.

Palavras-chave: amônia, consumo de matéria seca, digestibilidade, síntese microbiana

Introdução

As pastagens são o principal componente da alimentação dos rebanhos bovinos no Brasil. Uma alternativa que vem trazendo retorno para a pecuária no país é o consórcio de pastagens, em que há inclusão de leguminosas em pastagens de gramíneas (Skonieski et al., 2011). Na região Sul do país a aveia e o azevém, são as principais pastagens utilizadas no inverno, consorciadas com leguminosas como a ervilhaca que tem uma capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico no solo, através da simbiose com bactérias presentes nos rizomas das raízes e melhorar a qualidade nutricional da massa de foragem ofertada (Ribeiro Filho et al., 2003).

No estágio vegetativo, pastagens temperadas podem apresentar altos teores de proteína solúvel e nitrogênio não proteico (NNP) (Jaturasitha et al., 2009). Portanto, a suplementação é necessária para alcançar níveis aceitáveis na produção de ruminantes com dietas a base de forragens, sendo que tipos de pastagem e de suplemento variam consideravelmente. A gramínea temperada tem uma maior digestibilidade e maior conteúdo total e solúvel de nitrogênio (N), que representa maior teor de proteína bruta (PB), proporcionando maior quantidade de amônia para as bactérias ruminais, e de α -

amino no intestino delgado, quando adicionado uma fonte energética ou carboidrato não fibroso (CNF) (Amaral et al., 2010).

Nesta situação, a suplementação energética, com CNF de rápida fermentação pode melhorar o desempenho dos animais, pelo fato de melhorar a utilização do nitrogênio da forragem, o que gera um aumento na população microbiana, e conseqüentemente aumento na produção de proteína microbiana (NRC, 2001). Em casos onde a suplementação energética é alta, podem ocorrer efeitos substitutivos, aditivos ou ainda depressivos no consumo da forragem (Maciel et al., 2014).

Suplementações fornecidas em 1% do PV podem aumentar a capacidade de suporte da carga animal em até 32% (Maciel et al., 2014), porém o excesso de concentrado pode gerar uma redução no pH ruminal, que também tem forte influência no consumo de matéria seca (CMS) (Drewnoski & Poore, 2015).

A suplementação pode levar a excessos ou déficit de proteína ou energia na dieta, que por sua vez, pode levar a alguns desbalanços ruminais, prejudicando o crescimento da microbiota (Amaral et al., 2010). Ainda pode ocorrer uma queda no pH ruminal, que tem impacto sobre a fermentação e degradação ruminal, que é dependente não somente da redução do pH, mas também da quantidade de tempo que o pH ruminal fica abaixo do ideal para que a fermentação ruminal esteja em equilíbrio (Drewnoski & Poore 2015).

São vários os fatores que afetam a fermentação e degradação da massa ruminal, porém a mudança brusca no pH ruminal é a principal, podendo diminuir ou parar a atividade dos microrganismos que fazem a digestão, além de níveis baixos de N-amoniaco no rúmen podem limitar a fermentação adequada da digesta (Franco et al., 2004). Smith et al., (1972), relatam que as variações entre 6,0 e 6,8 no pH ruminal fornece uma máxima atividade de organismos celulolíticos.

Após a fermentação e degradação da massa ruminal, acontece a digestão intestinal das bactérias ruminais, onde são excretadas na urina como derivados de purina (DP), principalmente na forma de alantoína, mas também como xantina, hipoxantina e ácido úrico (Chen & Gomes, 1992). Os DP estão extremamente correlacionadas com a formação de proteína microbiana (PMic) formada no rúmem, que por sua vez é responsável por mais de 50% dos α -amino absorvidos no intestino delgado (AFRC, 1992).

Através de uma coleta *spot* de urina, pode-se determinar os níveis de creatinina excretada na urina, e, portanto estimar o volume urinário total (Kozloski et al., 2005), possibilitando também avaliar a excreção de derivados de purina e a PMic formada (Oliveira et al., 2007 e LEAL et al., 2007), e deste modo entender se a dieta altera o crescimento microbiano.

Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito das dietas: aveia, azevém e suplemento (AVAZS), aveia, azevém e ervilhaca (AVAZE) e aveia, azevém, ervilhaca e suplemento (AVAZES), sobre o consumo de nutrientes, parâmetros ruminais e síntese de proteína microbiana em bovinos.

Material e métodos

O experimento foi conduzido na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Dois Vizinhos, localizada no terceiro planalto paranaense, com altitude de 520 m, latitude de 25°44" Sul e longitude de 54°04" Oeste, onde o clima é do tipo subtropical úmido mesotérmico (Cfa), segundo a classificação de Köppen (Maak, 1968). O solo pertence à Unidade de mapeamento Nitossolo vermelho distroférico, textura argilosa, relevo ondulado (Bhering & Santos, 2008), na Unidade de Ensino e Pesquisa (UNEPE) – Bovinocultura de Corte, durante os meses de junho à dezembro de 2014. O experimento foi conduzido de acordo com a aprovação nº 2015/15 da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da própria instituição. O delineamento experimental foi um duplo

Quadrado Latino 3 x 3 (3 dietas x 3 períodos), utilizando-se seis bovinos machos castrados, fistulados no rúmen de acordo com a aprovação n° 2013/003 da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), com peso vivo médio de 350 kg, mantidos em pastagem cultivada de aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.) e azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) suplementados (1% do peso vivo, base na matéria seca (MS)) com milho moído (AVAZS); mantidos em pastagem de aveia preta, azevém mais ervilhaca (*Vicia sativa*) suplementados (AVAZES) ou não com milho moído (1% do peso vivo, base na matéria seca (MS)) (AVAZE). Ao fim de cada período experimental os animais eram pesados, para ajuste do fornecimento do concentrado.

A implantação da pastagem foi realizada pelo sistema de plantio direto sobre resíduo de lavoura entre abril e maio de 2014. Foram utilizados 80 kg de semente de aveia, 40 kg de semente de azevém e 30 kg de semente de ervilhaca por hectare, em conjunto com a adubação de base de 300 kg de NPK da fórmula 10-18-20, conforme a análise do solo, distribuídos na linha. Durante o experimento foram realizadas adubações de cobertura, utilizando-se 100 kg ha⁻¹ de ureia, parcelada em três aplicações. O experimento foi conduzido em quatro períodos de 18 dias, sendo os primeiros 14 dias destinados à adaptação dos animais ao manejo e às dietas e os últimos quatro dias à coleta de dados e amostras, durante o período de pleno estágio vegetativo das forrageiras.

As amostras da pastagem foram coletadas pelo método de simulação de pastejo (Euclides et al., 1992) pesadas e posteriormente secas a 55° C em estufa ventilada e moídas com peneira de 1mm. A composição química das dietas é apresentada na Tabela 1. O teor de MS foi obtido por secagem em estufa a 105° C, durante, pelo ao menos, oito horas; o teor de matéria orgânica (MO), por queima em mufla a 600°C, por quatro horas; N total foi obtido pelo método de Kjeldahl (método 984.13, AOAC, 1995); extrato etéreo por extração com éter a 90°C por meio do extrator de gordura XT4 Ankom®; fibra em

Tabela 1: Composição química e digestibilidade *in vitro* das dietas experimentais, expressos em g kg⁻¹(AVAZS=aveia, azevém e suplemento; AVAZE= aveia , azevém e ervilhaca; AVAZES= aveia, azevém, ervilhaca e suplemento).

Componente ¹	ALIMENTOS			
	VOLUMOSO			CONCENTRADO
	AVAZS	AVAZE	AVAZES	MILHO
MS	231,88	227,22	232,38	886,45
Composição (g kg ⁻¹):				
MO	853,26	837,31	843,86	849,97
FDN	481,66	496,53	482,53	228,95
FDA	286,05	270,03	283,79	37,81
LDA	24,20	27,87	27,44	5,75
EE	22,86	21,49	18,38	20,16
CNF	326,87	297,45	315,31	656,07
NDT	664,21	646,58	639,64	809,47
N total	149,35	182,28	174,60	77,10
Composição (g kg ⁻¹ da PB)				
PIDN	14,31	25,20	22,29	5,39
PIDA	5,60	10,66	16,95	5,39
DIVMS	818,16	830,46	812,23	859,85
DIVMO	735,57	734,45	722,37	827,48

¹ MS= matéria seca, MM= matéria mineral, MO= matéria orgânica, EE= extrato etéreo, FDN= fibra em detergente neutro, FDA= fibra em detergente ácido, LDA= lignina, PB= proteína bruta, PIDN= proteína insolúvel em detergente neutro, PIDA= proteína insolúvel em detergente ácido, NDT= nutrientes digestíveis totais(NRC, 2001), CNF= carboidratos não fibrosos (WEISS,1999),DIVMS= digestibilidade *in vitro* da matéria seca, DIVMO= digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica.

detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados pelo analisador de fibra Ankom 2000, utilizando as soluções de FDN e FDA preparadas por metodologia proposta por Van Soest e descritas por Silva e Queiroz (2002); lignina (LDA) determinada por Robertson & Van Soest (1981); N insolúvel em detergente neutro (NDIN) e em detergente ácido (NIDA) segundo Licitra et al. (1996); digestibilidade *in vitro* da MS (DIVMS) das amostras do pasto foi determinada por método adaptado de Tilley e Terry

(1963). Aproximadamente 0,25g de amostra previamente secas e moídas foram pesadas em filtros F57, os quais foram selados e incubados anaerobicamente em jarros de vidro contendo líquido ruminal e solução tampão (proporção de 4:1), a 39°C em banho-maria durante 48h, com agitação lenta, utilizando uma Incubadora Artificial. O fluído ruminal foi obtido de dois bovinos fistulados no rúmen mantidos em pastagem de Tifton 85 e recebendo 1% do peso vivo (com base na matéria seca) de milho moído. Após 48h de incubação, os saquinhos foram tratados com solução detergente neutro (Goering & Van Soest, 1970), através do aparelho *Fiber Analyzer-Ankom*²⁰⁰⁰ (Ankom®, 2000), lavados com água corrente e acetona, secos em estufa a 105°C durante pelo menos oito horas e pesados.

A excreção fecal foi estimada utilizando o marcador externo óxido crômico (Cr₃O₂) fornecido durante 12 dias. A partir do segundo dia do período experimental, os bovinos receberam uma dose diária de 10 g de Cr₃O₂, que foi previamente pesado em cartuchos de papel, e colocado diretamente no rúmen, via fístula ruminal, às 11 h. Nos últimos cinco dias de fornecimento de cromo, iniciou-se as coletas de fezes, que foram realizadas diretamente no reto, duas vezes ao dia (às 7:00 e às 11:00 horas). Posteriormente, as amostras de fezes foram armazenadas em sacos plásticos, identificadas congeladas a -10°C. Para a análise, as amostras de fezes foram secas em estufa de ventilação forçada de ar a 55°C por 72 h e moídas (peneira de 1 mm).

As amostras fecais foram analisadas quanto a concentração de cromo, sendo pesado, aproximadamente 1g de amostra parcialmente seca em cadinho de porcelana, e queimado em mufla a 600°C, durante duas horas, após a queima, adicionou-se 3mL de uma solução contendo ácido fosfórico a 85%, com sulfato de manganês a 10% e 4 ml de solução de bromato de potássio a 4,5%, e posteriormente levados a um banho-maria de areia e cobertos com um vidro relógio, onde permaneceram até a efervescência. Após esfriar, o material foi dissolvido em um balão volumétrico de 100 ml contendo 25 ml de

uma solução contendo 4000 ppm de Ca, e completando o volume com água destilada. Após, foram transferidos para potes identificados e levados para leitura por espectrofotometria de absorção atômica no comprimento de onda de 357,9 nm, ajustado para 0% de absorbância.

Para realizar o cálculo do CMS utilizou-se a equação: $CMS = PF \times (1 - DIVMS)$, onde a PF é a produção fecal, que é resultado da relação entre a concentração de cromo fornecida, já conhecida, e a concentração de cromo presente nas fezes obtida em análise laboratorial, pelo método de espectrofotometria de absorção atômica, proposto por Willians et al. (1962) e a DIVMS é obtida pela análise laboratorial pelo método de Tilley & Terry (1963).

As amostras de líquido ruminal foram coletadas nos últimos quatro dias do período experimental com intervalos de oito horas, avançando duas horas a cada dia, obtendo-se amostras a cada duas horas ao longo de um período de 24 horas. Logo após a coleta realizou-se a leitura do pH do líquido ruminal e duas alíquotas de 10 ml foram acidificadas, uma com 1,0 ml de ácido sulfúrico a 20%, e outra com 1,0 ml de ácido tricloroacético (TCA) a 50%, centrifugadas (3500 rpm) durante 20 minutos e congeladas para posterior análise. Foram determinados os teores de N amoniacal (Weatherburn, 1967), de açúcares totais solúveis (Dubois et al., 1956), de α - amino (Palmer & Peters, 1969).

As amostras de urina foram coletadas nos últimos quatro dias do período experimental, uma vez ao dia (as 07:00 horas), na forma *spot*. Posteriormente, foram acidificadas com 40 ml de ácido sulfúrico (0,0036N) em 10 ml de urina em um balão volumétrico de 50 ml, identificadas e congeladas para posterior análise.

As concentrações de creatinina (CRE) das amostras de urina foram determinadas colorimetricamente utilizando-se Kit comercial (LABTEST, Lagoa Santa. MG, Brasil),

para obtenção da produção diária de urina (PU) através da equação: $PU = \frac{PV \times EDCRE}{CRE}$, onde PV é o peso vivo do animal, EDCRE representa excreção diária de creatinina por kg de PV (valor médio obtido por vários autores: Rennó et al., 2000; Leal et al., (2007); Braga et al., (2012)) e CRE indica o nível de creatinina ($mg L^{-1}$).

As purinas absorvidas (PA) foram calculadas a partir da excreção de derivados de purinas (DP) na urina (soma do total de alantoína e do total de ácido úrico), por intermédio da equação: $PA = 0,85DP + 0,385PV^{0,75}$, em que 0,85 é a recuperação das purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e $0,385 PV^{0,75}$, a contribuição endógena para a excreção de purinas (Verbic et al., 1990). Os níveis de alantoína (ALA) na urina foram obtidos através da técnica proposta por Fujihara et al. (1987), descrita por Chen & Gomes, (1992), e de ácido úrico através de kit comercial (LABTEST).

A síntese microbiana ruminal (SMR) foi estimada a partir das purinas absorvidas, descrita por Chen & Gomes (1992), por intermédio da equação: $SMR = \frac{70PA}{0,83 \times 0,116 \times 1000}$ em que 70 é o nitrogênio de purinas, PA são as purinas absorvidas; 0,116, a relação N purina:N total das bactérias; e 0,83, representa a digestibilidade das purinas microbianas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, pelo procedimento Mixed do S.A.S em nível de $\alpha=0,05$ de significância, incluindo no modelo os efeitos dos animais, períodos, tratamentos, tempo e interação tempo x tratamento. Adicionalmente, as médias foram comparadas pelo teste T e o teste do contraste em relação aos tratamentos e os parâmetros ruminais foram analisados por regressão em relação ao tempo de coleta das amostras, conforme o modelo: $Yijkl = \mu + Ai + Pj + Dk + A(P * D)ijk + Tl + (D * T)kl + eijkl$, onde: $Yij(k)$ = variáveis dependentes, μ = média das observações, Ai = efeito dos animais, Pj = efeito dos períodos, Dk = efeito dos tratamentos, $A(P * D)ijk$ =

efeito aleatório entre unidades experimentais, $(D * T)kl$ = efeito da interação tratamentos com tempo e $eijkl$ = erro residual.

Resultados e Discussão

O consumo de matéria seca (CMS) foi similar entre as dietas testadas ($\alpha > 0,05$) (tabela 2), no entanto, esperava-se uma diferença para os animais suplementados, o que não aconteceu, possivelmente devido à ocorrência do efeito substitutivo no consumo do volumoso pelo concentrado. Isto é observado em pastagens com elevado valor nutritivo e boa disponibilidade, portanto não limitam a produção animal (Maciel et al., 2014). Goes et al. (2005) testando pastagem de Brachiaria, e Roso et al. (2009) testando pastagem de azevém, também encontraram efeito substitutivo em bovinos mantidos em pastejo e suplementados.

O consumo de carboidratos não fibrosos (CCNF) e o consumo de nutrientes digestíveis totais (CNDT) diferiram estatisticamente ($\alpha < 0,05$) entre as dietas testadas (tabela 2). O CCNF dos bovinos alimentados com AVAZE foi menor, já para AVAZS e AVAZES foi maior. O maior CNDT ocorreu para a dieta AVAZS e o menor para a dieta AVAZE, sendo que a dieta AVAZES não diferiu das anteriores.

O maior CNDT ocorreu para as dietas que continham suplemento (AVAZS e AVAZES), visto que a quantidade de NDT presente no milho e nas pastagens é de em média 809,47 e 650,14, respectivamente, portanto as dietas que continham suplemento apresentaram um maior CNDT, em relação à dieta sem suplementação, mostrando que efeito substitutivo de consumo da pastagem pelo concentrado se manifestou, e portanto alterando o CNDT. Em trabalho realizado por Oliveira et al. (2005), que avaliaram níveis alto e baixo de PB (11,45 e 16,54%) na dieta de bovinos, com massa corporal de 506,4 kg, onde se tinha um NDT de 64,26% e 66,26%, respectivamente, obteve-se um CNDT de

7537,70 e 7600,02, respectivamente para as dietas testadas, mostrando que os resultados estão próximos aos encontrados nesta pesquisa.

Tabela 2: Estimativa do consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria orgânica (CMO), consumo de fibra em detergente neutro (CFDN), consumo de nutrientes digestíveis totais (CNDT) e consumo de carboidratos não fibrosos (CCNF) de novilhos nas dietas experimentais testadas (AVAZS=aveia, azevém e suplemento; AVAZE= aveia, azevém e ervilhaca; AVAZES= aveia, azevém, ervilhaca e suplemento).

Variáveis	DIETAS			<i>Erro Padrão</i>	<i>Valor P</i>
	AVAZE	AVAZS	AVAZES		
CMS ¹	11,01	12,00	11,77	0,84	0,6984
CMO ¹	9,22	10,22	9,97	0,71	0,6087
CFDN ²	5446,37	4892,77	4803,44	442,5	0,5339
CNDT ^{2,3}	6351,36 B	7396,54 A	6915,95 AB	267,64	0,0351
CCNF ²	3288,01 B	5074,88 A	4905,43 A	294,01	0,0048

¹Valores expressos em kg d⁻¹.

² Valores expressos em g d⁻¹.

³ CNDT = CNDT do alimento subtraído do NDT perdido nas fezes.

Médias com letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste t ($\alpha=0,05$).

O CNDT encontrado por Chizzotti et al. (2008), nos diferentes níveis (0; 15,5; 31 e 46,5) de NNP testados no primeiro experimento foram de 7180, 6910, 7200 e 6630 (g d⁻¹), e no segundo experimento de 6280, 6750, 6710 e 6720 (g d⁻¹), respectivamente. Estes resultados corroboram com os encontrados nesta pesquisa.

A suplementação promoveu maior CCNF (AVAZS e AVAZES) devido a concentração de CNF do milho ser superior ao das pastagens temperadas consumidas, e pelo mesmo motivo do efeito de substituição provocado pela inclusão da suplementação energética. O CCNF encontrado por Chizzotti et al. (2008), nos diferentes níveis (0; 15,5; 31 e 46,5) de NNP testados no primeiro experimento foram de 4120, 4090, 4340, 4180 (g

d⁻¹), e no segundo experimento de 3800, 4120, 4430, 4290 (g d⁻¹), respectivamente. Estes resultados corroboram com os encontrados nesta pesquisa.

O consumo de nitrogênio (CN), a retenção de nitrogênio (RN) e a digestibilidade verdadeira do nitrogênio (DVN) foi superior estatisticamente ($\alpha < 0,05$) para a dieta AVAZE, sendo as demais (AVAZS e AVAZES) menores, já para as variáveis digestibilidade de nitrogênio (DN) e eficiência de utilização do nitrogênio (EUN) foram mais elevados estatisticamente ($\alpha < 0,05$) para AVAZE, porém não diferindo da dieta AVAZES, que por sua vez não diferiu do tratamento AVAZS (tabela 3).

Tabela 3: Consumo de nitrogênio (CN), retenção de nitrogênio (RN), digestibilidade de nitrogênio (DN), digestibilidade verdadeira do nitrogênio (DVN) e eficiência de utilização do nitrogênio (EUN) de bovinos alimentados com as dietas experimentais (AVAZS=aveia, azevém e suplemento; AVAZE= aveia, azevém e ervilhaca; AVAZES= aveia, azevém, ervilhaca e suplemento).

Variáveis ¹	DIETAS		
	AVAZE	AVAZS	AVAZES
CN	321,03 A	247,14 B	272,31 B
RN	232,36 A	158,10 B	178,87 B
DN	69,75 A	60,74 B	64,06 AB
DVN	91,68 A	83,97 B	84,13 B
EUN ²	0,70 A	0,61 B	0,64 AB

¹ Valores expressos em g d⁻¹.

² Valores relativos.

Médias com letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste t ($\alpha = 0,05$).

Cappelozza et al. (2014a) trabalhando com novilhas de corte, com massa corporal de 200 kg observaram CN de 184,00 e 177,60 (g d⁻¹), para os tratamentos proteico e energético, respectivamente. Cappelozza et al. (2014b), observaram valores superiores, quando esteve avaliando o CN de bovinos com massa corporal inicial de 494 kg, que

identificaram um consumo de 259,20 e 241,60 (g d⁻¹), para os mesmos tratamentos proteico e energético. Essa diferença no CN pode ser explicada pela diferença na exigência das categorias animais (NRC, 1996). Portanto, a diferença no CN só será possível pelo tipo de dieta ofertada e não pela categoria animal.

O NNP em pastagens temperadas tende a ser maior devido possuir um teor mais elevado de PB, além da sua maior digestibilidade, que implica em mais N de rápida solubilização. Chizzotti et al. (2008) mostram que, independente da quantidade de nitrogênio não proteico (NNP) existente na dieta, o CN não é influenciado, pois testando níveis (0; 15,5; 31 e 46,5) de NNP, observaram no primeiro experimento em animais de massa corporal de 300 kg um CN de 206,40, 196,80, 196,80, 177,60 (g d⁻¹). No segundo experimento com animais de 350 kg, observaram para os níveis crescentes de NNP um CN de 193,60, 204,80, 206,40, 193,60 (g d⁻¹), para os níveis crescentes de NNP. Valores inferiores aos obtidos neste trabalho, mas notadamente, mostrando que a quantidade de NNP presente na dieta não tem influência no CN dos animais, portanto esse fator não esteve influenciando esta diferença.

Costa et al., (2011) observando o CN, RT e EUN encontraram para bovinos com peso médio de 335 kg e alimentados com dietas com níveis de substituição da suplementação de ureia pela albumina (ureia, 2/3 ureia + 1/3 albumina, 1/3 ureia + 2/3 albumina e albumina) encontram diferença estatística ($\alpha < 0,10$), sendo que para CN obtiveram valores de 113,10; 159,66; 159,29; 180,97 e 181,97 g d⁻¹, na RN 21,33; 56,62; 62,45; 89,69 e 78,37 g d⁻¹ e na EUN de 0,180; 0,348; 0,390; 0,481 e 0,415 (%), respectivamente para as dietas testadas. Os resultados obtidos por Costa et al., (2011) são inferiores aos encontrados neste trabalho, mas retrata da mesma forma que a EUN aumenta (0,415) quando ocorre o incremento maior de proteína verdadeira (albumina) em relação o

controle (0,180). Além disso consegue-se observar que o aumento no CN esta correlacionado com a RN e conseqüentemente com a EUN.

Segundo Maciel et al., (2014) a proteína degradável no rúmen (PDR), proveniente da pastagem ou de qualquer outro alimento, sendo em excesso, pode estar associada a um aumento na taxa de passagem, pela falta de carboidratos fermentescíveis, já os animais que recebem suplementação em excesso podem gerar uma diminuição no pH ruminal, que pode diminuir o CMS, e conseqüentemente o consumo dos demais nutrientes.

Dados obtidos por Drewnoski & Poore (2015) comprovam que animais consumindo feno de festuca e suplementados a 1% do PV consomem uma maior quantidade de MS, e conseqüentemente, maior consumo de nutrientes, em relação aos animais não suplementados. No entanto, em seu trabalho, que continha dietas sem suplemento e com suplemento, o CN foi de 85 e 138 (g d^{-1}), sendo estes valores menores que a metade dos obtidos neste trabalho. Já no trabalho realizado por Oliveira et al. (2005), que avaliaram níveis alto e baixo de PB (11,45 e 16,54%) na dieta de bovinos, com massa corporal de 506,4 kg, consegue-se calcular um CN de 214,89 e 303,54 g d^{-1} , respectivamente, valores que se aproximam mais dos resultados obtidos.

As diferenças encontradas no consumo CNDT, CCNF, CN, RN, DN, DVN, EUN, tiveram influencia nos parâmetros ruminais dos bovinos. O pH e a amônia ruminal foram mais elevados ($\alpha < 0,05$), para os animais alimentados com a dieta AVAZE do que AVAZS e AVAZES, que foram semelhantes entre si. Os açúcares totais e os α -amino do fluído ruminal, variaram significativamente ($\alpha < 0,05$) entre as dietas experimentais, sendo que a dieta AVAZES foi superior a dieta AVAZE e AVAZS, que foram semelhantes entre si. Os peptídeos foram mais elevados ($\alpha < 0,05$) para AVAZES, porem não diferindo da dieta AVAZS, que por sua vez não diferiu do tratamento AVAZE (tabela 4).

Tabela 4: Parâmetros ruminiais de bovinos alimentados com as dietas experimentais (AVAZS=aveia, azevém e suplemento; AVAZE= aveia , azevém e ervilhaca; AVAZES= aveia, azevém, ervilhaca e suplemento).

Variáveis ¹	DIETAS			Valor P
	AVAZE	AVAZS	AVAZES	
pH	6,67 A	6,43 B	6,31 B	<0,0001
Amônia	16,77 A	9,05 B	8,21 B	<0,0001
Açúcares totais	100,83 B	100,67 B	147,44 A	<0,0001
Peptídeos	59,41 B	65,36 AB	74,57 A	0,0013
α -amino	6,07 B	6,36 B	6,99 A	<0,0001

¹Amônia, açúcares totais, peptídeos e α -amino expressos em mg dL⁻¹.

Médias com letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente ($\alpha=0,05$).

Oliveira et al. (2005) avaliaram níveis alto e baixo (11,45 e 16,54) de PB na dieta de bovinos, observaram pH de 6,44 e 6,60, respectivamente para as dietas testadas, resultados próximos aos encontrados neste estudo. Silveira et al. (2006), avaliando novilhos mantidos em pastagem temperada de aveia e azevém com diferentes tipos de suplementação, observaram variação no pH superior para os animais mantidos em pastejo exclusivo (7,05) do que animais recebendo suplementação com silagem de grão úmido de sorgo (6,71). França et al. (2012) trabalhando com pequenos ruminantes obtiveram valor de pH em torno de 6,9 a 7,05, avaliando dietas com relação volumoso:concentrado de 60:40 e inclusão de resíduo de panificação, indicando que o desenvolvimento dos microrganismos celulolíticos não foi influenciado. Mould & Orskov (1983), relataram que a atividade fermentativa pode ser prejudicada quando o pH for abaixo de 6,0.

Smith et al. (1972), relatam que as variações entre 6,0 e 6,8 no pH ruminal fornece uma máxima atividade de organismos celulolíticos. Por conseguinte, nas dietas testadas que apresentaram resultado significativo para o pH ($\alpha<0,05$), não afetou negativamente a taxa de crescimento microbiano.

A concentração de amônia no rúmen (tabela 4) decrescem de 16,77 para 9,05 e 8,21 mg dL⁻¹ à medida que ocorre fornecimento de concentrado na dieta, que é explicado pela maior quantidade de carboidratos fermentescíveis presente no concentrado, que permite um maior crescimento microbiano, pela sincronização e utilização da amônia e dos esqueletos de carbono, o que acaba diminuindo a concentração da amônia no fluido ruminal e a perda de amônia para o ambiente (NRC, 1996; NRC, 2001).

No entanto, Mehrez et al. (1977) afirmam que a concentração entre 19 e 23 mg dL⁻¹ de amônia no fluido ruminal, representa o máximo da atividade de fermentação no rúmen. Já Van Soest (1994) relata que o nível ideal de amônia no fluido ruminal é de 10 mg dL⁻¹, para uma melhor atividade fermentativa, mas podendo ser limitada se os teores de amônia forem menores que 5 mg dL⁻¹ (Satter & Slyter, 1974), portanto valores próximos aos encontrados por Mehrez et al. (1977) e Van Soest (1994) foram encontrados em animais que receberam suplementação, com ou sem a presença de leguminosa. Estes resultados sugerem que a dieta na qual não continha suplementação (AVAZE) resultou em um acúmulo maior de amônia ruminal, indicando um possível excesso de amônia para os microrganismos ruminais ou estes não foram capazes de utilizar o N, por possíveis dois motivos, primeiro a energia estava limitando ou segundo o crescimento microbiano não acompanhou a solubilização do N (Chizzotti et al., 2014).

Silveira et al. (2006), avaliando novilhos mantidos em pastagem temperada com diferentes tipos de suplementação, obtiveram concentrações de amônia de 11,80 e 9,0 mg dL⁻¹, para animais em pastejo exclusivo e em pastejo com suplementação com grão de sorgo, respectivamente. Oliveira et al. (2005) avaliando níveis alto e baixo (11,45 e 16,54) de PB na dieta de bovinos, com massa corporal de 506,4 kg, observaram teores de amônia de 8,13 e 14,55, mostrando que em dietas altamente proteicas os níveis de amônia são superiores aos de dietas onde o suplemento é energético, ou com baixo teor de PB.

Resultados inversos foram obtidos por França et al. (2012) que trabalhando com pequenos ruminantes avaliando dietas com relação volumoso: concentrado de 60:40 e níveis de inclusão de resíduo de panificação, verificaram concentrações de amônia entre 11,38 a 24,20 mg dL⁻¹, e mostrando que ao retirar todo milho da dieta e incluindo o resíduo de panificação, que possui um teor de PB superior ao do milho, ocorreu uma diminuição nos teores de amônia.

As concentrações de açúcares totais (tabela 4) foram superiores e significativos ($\alpha < 0,05$) no rumem dos animais alimentados no tratamento no qual continha leguminosa e suplemento (AVAZES), já os demais não diferiram entre si. O fato de os açúcares totais apresentarem uma maior concentração no fluido ruminal para esta dieta se resume ao fato de que esta dieta possui uma quantidade de CNF maior que na dieta AVAZE, que no rúmen são digeridos e quebrados em unidades de açúcares (glicose).

Silveira et al. (2006) trabalhando com bovinos em pastagem temperada e com diferentes fontes de suplementação energética observou a produção de açúcares totais no fluido ruminal na proporção de 42,6; 37,9; 46,5; e 38,4, para as dietas aveia e azevém, aveia e azevém e suplementados com silagem de planta inteira, aveia e azevém e suplementados silagem de grão úmido de sorgo ou aveia e azevém e suplementados com grão seco de sorgo, respectivamente, portanto encontrando valores bem inferiores aos obtidos neste trabalho, mas fato que pode ser explicado devido o amido do grão de sorgo ter uma menor solubilidade e degradabilidade ruminal, em relação ao milho moído.

As concentrações de peptídeos (tabela 4) foram superiores e significativos ($\alpha < 0,05$) no tratamento que continha leguminosa e suplemento (AVAZES), mas não diferindo do tratamento em que continha somente suplemento (AVAZS) e este por sua vez não sofreu influencia do tratamento sem suplementação, mas com consórcio com a ervilhaca

(AVAZE). Os α -amino foram superiores estatisticamente das demais ($\alpha < 0,05$) na dieta na qual continha leguminosa e suplemento (AVAZES).

Resultados publicados por Volden et al. (2002), mostram que os teores encontrados para peptídeos de cadeia curta foram de em média 170 mg L^{-1} , e para peptídeos de cadeia longa em torno de 100 mg L^{-1} , que representa uma concentração total de peptídeos de 270 mg L^{-1} , ou seja 27 mg dL^{-1} , nas primeiras quatro horas após a alimentação das vacas leiteiras consumindo 20 kg MS d^{-1} . Já Robinson et al. (1999) observaram concentração média de peptídeos no líquido ruminal de 124 mg L^{-1} , ou $12,4 \text{ mg dL}^{-1}$, numa escala de tempo maior, trabalhando com vacas leiteiras recebendo 21 kg MS d^{-1} . Estas diferenças são explicadas pelas diferentes dietas estudadas e pelos diferentes métodos analíticos de determinação dos teores de peptídeos. Os resultados obtidos pelos autores mostram que os teores de peptídeos são inferiores aos obtidos neste trabalho.

Silveira et al. (2006) trabalhando com bovinos em pastagem hibernal e com diferentes fontes de suplementação energética não verificaram diferença estatística para a produção de peptídeos e α -amino no fluido ruminal, sendo que obteve teores de peptídeos na ordem de 35,9; 32,6; 30,2 e $38,7 \text{ mg dL}^{-1}$, e teores de α -amino na ordem de 27,6; 27,5; 28,2 e 28,6, para as dietas aveia e azevém, aveia e azevém e suplementados com silagem de planta inteira, aveia e azevém e suplementados silagem de grão úmido de sorgo ou aveia e azevém e suplementados com grão seco de sorgo, respectivamente. No entanto, estes valores de peptídeos encontrados pelos autores são inferiores, mas as concentrações de α -amino são superiores.

O pH ruminal no decorrer das horas variou cubicamente (figura 1) para todas as dietas, mostrando que ocorre uma diminuição significativa do pH nas primeiras quatro horas após a alimentação, estabilizando entre a 6^a e 10^a hora, e aumentando após 10 horas da alimentação. Silveira et al. (2006) também verificaram efeito cúbico para o pH.

Caldas Neto et al. (2008) verificaram efeito quadrático para o pH no decorrer de oito horas após a alimentação. Queiroz et al. (2011) também verificaram efeito quadrático para o pH após 10 horas da alimentação. No entanto, provavelmente se os autores tivessem avaliado por um período de 24 horas, a resposta para a variável pH poderia ser cúbico.

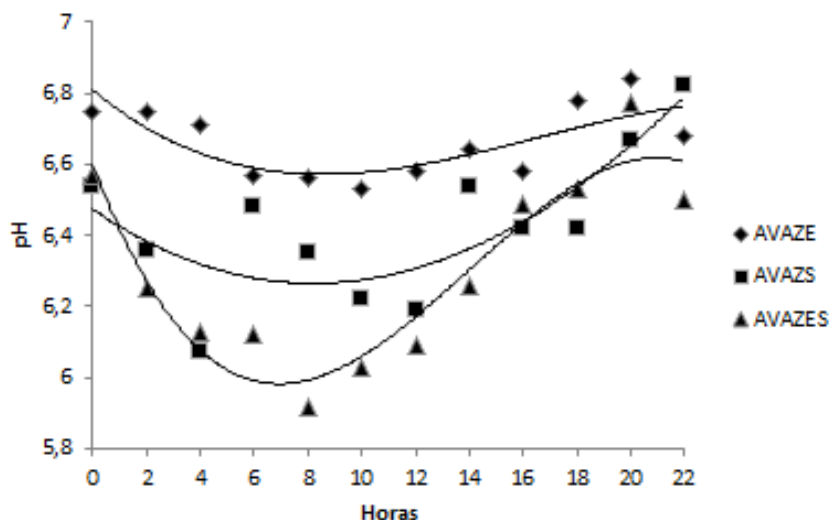


Figura 1: Variação do pH ruminal ao longo de um período de 24 horas, em bovinos alimentados com pastagens temperadas associadas à leguminosa ou suplementação energética.

A relação entre os parâmetros ruminais e o espaço temporal (24 h) é apresentada na figura 2 (a, b, c, d). Como não houve interação ($\alpha > 0,05$) entre tempo e tratamento para estas variáveis, é apresentada a variação média de todos os tratamentos. As concentrações de amônia (figura 2 a) e açúcares totais (figura 2 b) variaram cúbicamente ($\alpha < 0,05$), já as concentrações de peptídeos (figura 2 c) e α -amino (figura 2 d) variam linearmente ($\alpha < 0,05$), no decorrer das horas.

Chizzotti et al. (2014) nos diferentes níveis (0, 15,5, 31 e 46,5) de NNP testados obtiveram resultado quadrático para a variável amônia. Caldas Neto et al. (2008) verificaram efeito quadrático para a concentração de amônia avaliando oito horas após o

fornecimento de concentrado. Silveira et al. (2006) avaliando bovinos alimentados com pastagem de aveia e azevém, suplementados com diferentes fontes energéticas obteve resultado quadrático para as variáveis amônia, açúcares totais e α -amino, já para a curva de peptídeos, não houve ajuste.

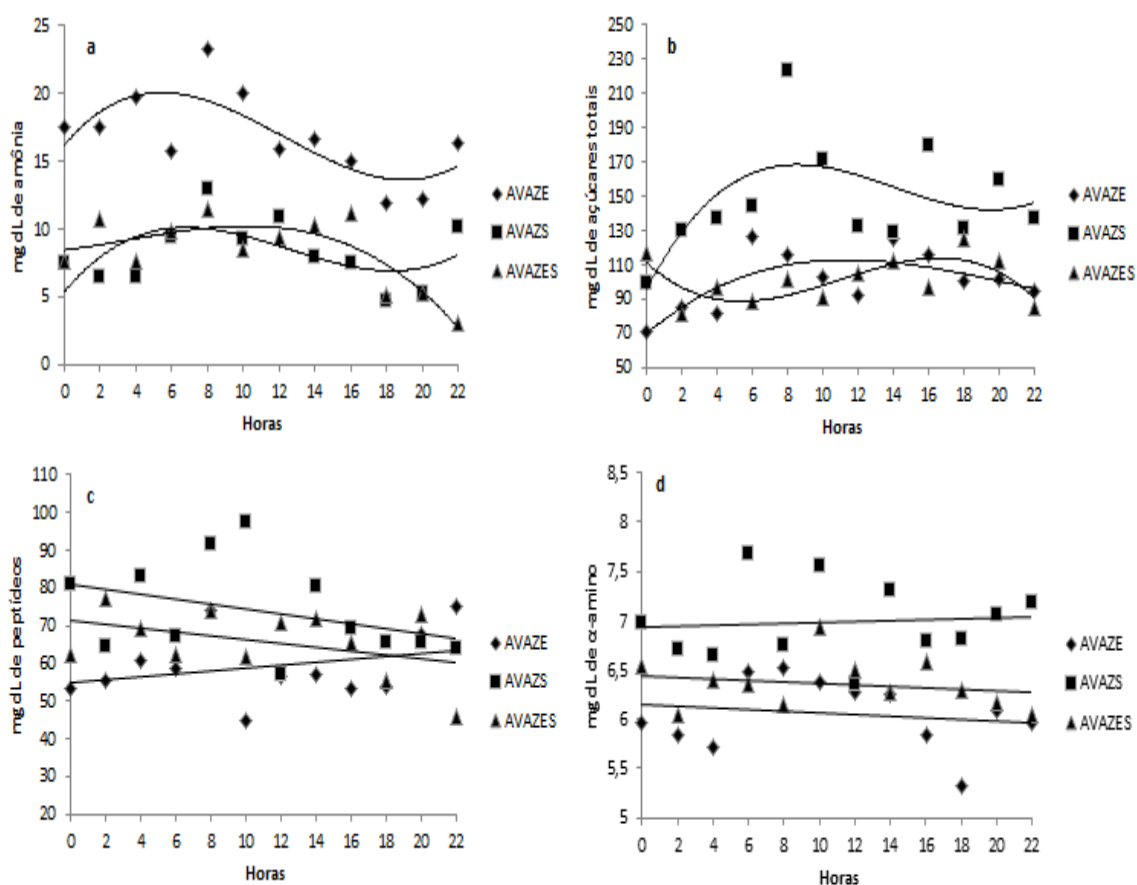


Figura 2: Variação das concentrações de amônia (a), açúcares totais (b), peptídeos (c) e α -amino (d) no fluído ruminal, ao longo de um período de 24 horas, em bovinos alimentados com pastagens temperadas associadas à leguminosa ou suplementação energética.

Volden et al. (2002), explica em seu estudo que algumas condições dietéticas, como a composição da dieta e o nível de alimentação podem afetar o taxa de degradação de pequenos peptídeos e afetar a utilização de α -amino livres no rúmen.

As excreções diárias da produção de urina, creatinina, alantoína, ácido úrico, purinas absorvidas, síntese de N e síntese de PM (tabela 5) não apresentaram efeito significativo em relação às dietas testadas ($\alpha > 0,05$).

Tabela 5: Valores de creatinina (mg dL^{-1}), produção urinária (L d^{-1}), alantoína ($\text{mg kg}^{0,75}$ e mmol d^{-1}), ácido úrico ($\text{mg kg}^{0,75}$ e mmol d^{-1}), purinas absorvidas (mmol d^{-1}) síntese de N e síntese de proteína microbiana (PM) (g d^{-1}) das dietas experimentais (AVAZS=aveia, azevém e suplemento; AVAZE= aveia , azevém e ervilhaca; AVAZES= aveia, azevém, ervilhaca e suplemento).

Variáveis	DIETAS			Erro Padrão	Valor P
	AVAZE	AVAZS	AVAZES		
Creatinina	531,71	722,78	608,09	90,54	0,3702
Produção urinaria	18,82	14,88	16,18	1,73	0,3153
Alantoína ¹	53,76	57,29	46,23	8,84	0,6780
Alantoína ²	165,59	179,33	135,8	27,45	0,5463
Ácido úrico ¹	1370,4	1762,94	1746,85	139,1	0,1391
Ácido úrico ²	12,18	15,67	15,52	1,24	0,1393
Purinas absorvidas	181,96	196,42	159	23,9	0,5603
Síntese de N	132,29	142,8	115,6	17,38	0,5603
Síntese de PM	826,85	892,54	722,51	108,61	0,5603

¹Valores expressos em $\text{mg kg}^{0,75}$.

²Valores expressos em mmol d^{-1} .

Isso não era esperado, visto que as bactérias ruminais se multiplicam através da quantidade de amônia e carboidratos fermentescíveis presentes no rúmen. Possivelmente, um fator foi limitante em cada dieta, sendo que amônia pode ter limitado o crescimento na dieta AVAZES, e os açúcares totais nas demais dietas (AVAZE e AVAZS), ou ainda o nível de ingestão de MS pode ter sido o limitante, pois segundo Braga et al. (2012), que verificaram que as excreções médias de alantoína, ácido úrico, purinas absorvidas e a produção de nitrogênio microbiano aumentaram de forma linear ($\alpha < 0,05$) com os níveis de consumo de MS. Este mesmo autor explica que o aumento nos níveis de ingestão resulta

em uma maior síntese proteína microbiana ruminal. Van Soest (1994) descreve que o aumento da excreção urinária de compostos nitrogenados varia em função do consumo de MS e PB na dieta.

Braga et al. (2012) em seu estudo com novilhas nelore com massa corporal média de 267 kg, testando um CMS de 10,0; 13,9; 17,5 e 21,0 g kg⁻¹PV^{0,75}, observaram síntese de N de 41,08; 41,87; 61,63 e 65,90 g d⁻¹, respectivamente para as dietas testadas, mostrando um aumento linear ($\alpha < 0,05$) com os níveis de consumo de MS, que não reflete somente no aumento do desempenho metabólico de síntese de N ruminal, mas também no aumento linear ($\alpha < 0,05$) das excreções de alantoína, ácido úrico, purinas totais e purinas absorvidas. Portanto, como não houve variação significativa no CMS e CMS PV^{0,75} ($\alpha > 0,05$), não se obteve variação na síntese de N e conseqüentemente na síntese de PM.

Leal et al. (2007) não observaram diferença estatística, estudando dois níveis de ureia: 0 e 100% em substituição ao farelo de soja; e dois níveis de oferta de concentrado: 0,75 e 1,25% do PV, em novilhos holandeses com massa corporal de 445 kg, observou uma produção na síntese de N de 131,8; 155,3; 155,7 e 131,3 g d⁻¹, respectivamente para as dietas testadas. Valores mais próximos aos encontrados neste estudo que em comparação com o estudo de Braga et al. (2012).

Oliveira et al. (2007) não observaram diferença estatística na síntese de N quando avaliaram cinco níveis de palma forrageira (0,; 12; 25; 38 e 51% na MS da dieta) de vacas holandesas com massa corporal média de 583 kg, e observaram teores de síntese de N de 189,90; 252,64; 242,28; 204,04 e 211,98 g d⁻¹, respectivamente para as dietas testadas.

Rennó et al. (2008) testou as rações que foram formuladas à base de feno de capim tifton 85 (*Cynodon* spp) e concentrado, na relação 50:50, contendo 12% de PB, com níveis crescentes de ureia: 0; 0,65; 1,3 e 1,95% na MS, sendo 12,70; 24,96; 37,51 e 45,95% da PB na forma de compostos nitrogenados não proteicos, e não identificaram diferença

estatística para a síntese de N, sendo que obteve 70,36; 62,38; 65,59 e 56,44 g d⁻¹, respectivamente para os tratamentos utilizados.

Conclusão

Bovinos mantidos em pastagens temperadas associadas à leguminosa e recebendo suplementação apresentam maior consumo de carboidratos não fibrosos e nutrientes digestíveis totais. Bovinos mantidos em pastagens temperadas associadas à leguminosa e não suplementados apresentam maior consumo de nitrogênio, retenção de nitrogênio, maior digestibilidade de nitrogênio, maior digestibilidade verdadeira do nitrogênio e melhor eficiência de utilização do nitrogênio.

Bovinos mantidos em pastagens temperadas exclusivas mantêm pH e as concentrações de amônia mais elevados. Pastagens temperadas em consórcio com ervilhaca mais suplementação promovem maiores concentrações de açúcares totais, peptídeos e α -amino no fluído ruminal de bovinos.

Referências

- AMARAL, G. A.; KOZLOSKI, G. V.; SANTOS, A. B.; CASTAGNINO, D. S.; FLUCK, A. C.; FARENZENA, R.; ALVES, T. P.; MESQUITA, F. R. 2010. Metabolizable protein and energy supply in lambs fed annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) supplemented with sources of protein and energy. **Journal of Agricultural Science**, v.149, p.519–527.
- Agriculture and Food Research Council - - AFRC. 1992. Technical committee on responses to nutrients. Nutritive requirements of ruminant animal: protein. **Nutrition Abstracts and Reviews Series B**. N.62, p.787-835.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. 1984. **Official methods of analysis**. Washington D.C., ed.14, p.1141.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. 1990. **Official methods of analysis**. Washington D.C., ed.15, p.1141.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. 1995. **Official methods of analysis**. Ed 16. Arlington: AOAC International, 2000p.

BHERING, S.B.; SANTOS, H.G. 2008. **Mapa de solos do Estado do Paraná: legenda atualizada**. Rio de Janeiro: EMBRAPA/IAPAR. p.74.

BRAGA, J. M. S.; VALADARES, R. F. D.; PELLIZZONI, S. G.; VALADARES FILHO, S. C.; PRATES, L. L.; COSTA E SILVA, L. F. 2012. Estimation of endogenous contribution and urinary excretion of purine derivatives from the total digestible nutrient intake in Nellore heifers. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.8, p.1899-1906.

CALDAS NETO, S. F.; ZEOULA, L. M.; PRADO, I. N.; BRANCO, A. F.; KAZAMA, R.; GERON, L. J. V.; MAEDA, E. M.; FERELI, F. 2008. Proteína degradável no rúmen na dieta de bovinos: digestibilidades total e parcial dos nutrientes e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.6, p.1094-1102.

CAPPELLOZZA, B. I.; COOKE, R. F.; REIS, M. M.; MORIEL, P.; KEISLER, D. H.; BOHNERT, D. W. 2014a. Supplementation based on protein or energy ingredients to beef cattle consuming low-quality cool-season forages: II. Performance, reproductive, and metabolic responses of replacement heifers. **Journal of Animal Science**, v.92, p.2725-2734.

CAPPELLOZZA, B.I; COOKE, R.F; GUARNIERI FILHO, T.A; BOHNERT, D.W. 2014b. Supplementation based on protein or energy ingredients to beef cattle consuming low-quality cool-season forages: I. Forage disappearance parameters in rumen-fistulated steers and physiological responses in pregnant heifers. **Journal of Animal Science**. v. 92, p. 2716-2724.

CHEN X.B.; GOMES M.J. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives-an overview of technical details. **International Feed Research Unit Rowett Research Institute, Aberdeen, UK**. (ocasional publication), p.21.

CHIZZOTTI, F. H. M.; PEREIRA, O. G.; TEDESCHI, L. O.; VALADARES FILHO, S. C. CHIZZOTTI, M. L.; LEÃO, M. I.; PEREIRA, D. H. 2008. Effects of dietary nonprotein nitrogen on performance, digestibility, ruminal characteristics, and microbial efficiency in crossbred steers. **Journal of Animal Science** v. 86, p.1173-1181.

COSTA, V. A. C.; DETMANN, E.; PAULINO, M. F.; VALADARES FILHO, S. C.; HENRIQUES, L. T.; CARVALHO, I. P. C. 2011. Digestibilidade total e parcial e balanço nitrogenado em bovinos em pastejo no período das águas recebendo suplementos com nitrogênio não-proteico e/ou proteína verdadeira **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.12, p.2815-2826.

DREWNOSKI, M. E. AND POORE M. H. 2015. Effects of supplementation frequency on ruminal fermentation and digestion by steers fed medium-quality hay and supplemented with a soybean hull and corn gluten feed blend. **Journal of Animal Science**. v. 90, p. 881-891.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p.350-356.

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. 1992. Avaliação de diferentes métodos de amostragem para se estimar o valor nutritivo de forragens sob pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.21, p.691-702.

FRANCO, A. V. M.; FRANCO, G. L.; ANDRADE P. 2004. Parâmetros Ruminais e Desaparecimento da MS, PB e FDN da Forragem em Bovinos Suplementados em Pastagem na Estação Seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.5, p.1316-1324.

FRANÇA, A. B.; MORENZ, M. J. F.; LOPES, F. C. F.; MADEIRO, A. S.; MORENZ, D. A.; FARIA, B. M.; CABRAL, L. S.; FONSECA C. E. M. 2012. Bakery waste in sheep diets: intake, digestibility, nitrogen balance and ruminal parameters. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.1, p.147-153.

FUJIHARA, T., ORSKOV, E.R.; REEDS, P.J. 1987. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v.109, n.1, p.7-12.

GOES, R. H. T. B.; MANCIO, A. B.; LANA, R. P.; LEÃO, M. I.; ALVES, D. D.; SILVA, A. T. F. 2005. Recria de Novilhos Mestiços em Pastagem de *Brachiaria brizantha*, com Diferentes Níveis de Suplementação, na Região Amazônica. Consumo e Parâmetros Ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1730-1739.

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. 1970. Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications). Washington, DC: USDA, (Agricultural Handbook, 379).

MAAK, R. 1968. **Geografia física do Estado do Paraná**. Curitiba: Banco de Desenvolvimento do Paraná, 350p.

MACIEL, M. S.; SANTANA JÚNIOR, H. A.; SANTANA, E. O. C.; FERREIRA, A. H. C.; FIGUEIREDO, C. B.; OLIVEIRA, Z. F.; CARDOSO, E. S.; CARVALHO, M. E. L.; ABREU FILHO, G. 2014. Avaliação dos efeitos associativos da interação forragem suplemento de bovinos em pastejo. **Revista eletrônica nutritime**, v. 11, n. 06, p. 3799-3809.

MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R.; McDONALD, I. 1977. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. **British Journal Nutrition**, v.38, n.3, p.437-443.

MOULD, F.L.; ORSKOV, E.R. 1983. Manipulation of the rumen fluid pH and its influence on cellulosis in sacco, dry matter degradation and the rumen microflora of sheep offered either hay or concentrate. **Animal Feed Science Technology**, v.10, p.1-14.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. 1996. Nutrient requirements of beef cattle. 7.ed. Washington: **National Academic Press**. 242p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th. ed. Washington: **National Academy Press**, 381p.

LEAL, T. L.; VALADARES, R. F. D VALADARES FILHO, S. C.; LEÃO, M. I.; DETMANN, E.; BARBOSA, A. M.; CHIZZOTTI, M. L.; PAIXÃO, M. L. 2007. Variações diárias nas excreções de creatinina e derivados de purinas em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.896-904.

LICITRA, G., HERNANDEZ, T.M., VAN SOEST, P.J. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feed. **Animal Feed Science Technological**, v.57, p.347-358.

JATURASITHA, S.; NORKEA, W. R.; VEARASILP, T.; WICKE, M.; KREUZER M. 2009. Carcass and meat quality of Thain alive cattle fattened on Guinea grass (*Panicum maxima*) or Guinea grass–legume (*Stylosanthes guianensis*) pastures. **Meat Science**, n.81, p.155–162.

KOZLOSKI, G. V.; FIORENTINI, G.; HÄRTER, C. J.; SANCHEZ, L. M. B. 2005. Uso da creatinina como indicador da excreção urinária em ovinos. **Ciência Rural**, v.35, n.1, p.98-102.

PALMER, D.W.; PETERS J. T. 1969. Automated determination of free amino groups in serum and plasma using 2,4,6 trinitrobenzene sulfonate. **Clinical Chemistry**, v.15, p.891-901.

OLIVEIRA, M. V. M.; LANA, R. P.; JHAM, G. N.; PEREIRA, J. C.; PÉREZ, J. R. O.; VALADARES FILHO, S. C. 2005. Influência da Monensina no Consumo e na Fermentação Ruminal em Bovinos Recebendo Dietas com Teores Baixo e Alto de Proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1763-1774.

OLIVEIRA, V. S.; FERREIRA, M. S.; GUIM, A.; MODESTO, E. C.; LIMA, L. E.; SILVA, F. M. 2007. Substituição do milho e do feno de capim-tifton por palma forrageira. Produção de proteína microbiana e excreção de uréia e de derivados de purina em vacas lactantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.936-944.

QUEIROZ, M. F. S.; BERCHIELLI, T. T.; MORAIS, J. A. S.; MESSANA, J. D.; MALHEIROS, E. B.; RUGGIERI, A. C. 2011. Digestibilidade e parâmetros ruminais de bovinos consumindo *brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Arch. Zootec.** V.60, p.997-1008.

RENNÓ, L.N.; VALADARES, R.F.D.; LEÃO, M.I.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C.; CECON, P. R.; DIAS, H. L.C.; COSTA, M. A. L.; OLIVEIRA, R. V. 2000. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purina na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.4, p.1223-1234.

RENNÓ, L. N.; VALADARES FILHO, S. C.; PAULINO, M. F.; LEÃO, M. I.; VALADARES, R. F. D.; RENNO, F. D.; MÔNICA LOPES PAIXÃO, M. L. 2008. Níveis de uréia na ração de novilhos de quatro grupos genéticos: parâmetros ruminais, uréia plasmática e excreções de uréia e creatinina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p.556-562.

- RIBEIRO FILHO, H. M. N.; DELAGARDE, R.; PEYRAUD, J. L. 2003. Inclusion of white clover in strip-grazed perennial ryegrass swards: Herbage intake and milk yield of dairy cows at different ages of sward regrowth. **Animal Science**, v.77, p. 499-510.
- ROBERTSON, J. B.; VAN SOEST, P. J. 1981. The detergent system of analysis and its application to human foods. In: JAMES, W.P.T.; THEANDER, O. (Eds.). *The analysis of dietary fiber in food*. New York: Marcel Dekker, p.123-158.
- ROBINSON, P. H., W. CHALUPA, C. J. SNIFFEN, W. E. JULIEN, H. SATO, T. FUJIEDA, K. WATANABE, AND H. SUZUKI. 1999. Influence of post ruminal supplementation of methionine and lysine, isoleucine, or all three amino acids on intake and chewing behavior, ruminal fermentation, and milk and milk component production. **Journal of Animal Science**, v.77, p.2781-2792.
- SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal Nutrition** v.32, p.199-208.
- SILVEIRA, M. F.; KOZLOSKI, G. V.; BRONDANI, I. L.; FILHO, D. C. A.; RESTLE, J.; LEITE, D. T.; METZ, P. A. M.; SILVEIRA, S. R. L. 2006. Ganho de peso vivo e fermentação ruminal em novilhos mantidos em pastagem cultivada de clima temperado e recebendo diferentes suplementos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.3, p.898-903.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. 2002. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos 3. ed. Viçosa, MG: UFV, p. 235.
- SMITH, L.W.; GOERING, M.K.; GORDON, C.H. 1972. Relationship of forage compositions with rates of cell wall digestion and indigestibility of cell walls. **Journal of Dairy Science**, v.55, n.8, p.1140-1148.
- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. **Journal of the British Grassland Society**, v.18, p.104-111.
- VOLDEN H.; MYDLAND, L. T.; OLAISEN, V. 2002. Apparent ruminal degradation and rumen escape of soluble nitrogen fractions in grass and grass silage administered intraruminally to lactating dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 2704–2716.
- VAN SOEST, P. J. 1965. Symposium on factor influencing the voluntary intake of herbage by ruminants: voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. **Journal Animal Science**, v.24, n.3, p.834-843.
- VAN SOEST, P.J. 1994. **Nutrition ecology of the ruminant**. Ithaca: Comstock Publishing Associates, p.476.
- VERBIC, J.; CHEN, X.B.; MACLEOD, N.A.; ORSKOV, E.R. 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants: effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivatives excretion by steers. **Journal Agriculture Science**, v.114, n.3, p.243-248,

VAN SOEST, P.J. 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous foods. II. A rapid method for the determination of fibre and lignin. **Journal Association of Official Analytical Chemists**, v.46, p.829.

WEATHERBURN, M.W. 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**, v. 39, p. 971-974.

WEISS, W.P. 1999. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURERS, Ithaca. **Proceedings**. Ithaca: Cornell University, p.176-185.

WILLIAMS, C.H.; DAVID, D.J.; ILSMAA, O. 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. **Journal Agriculture Science**, v.59, n.1, p.381-385.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Bovinos mantidos em pastagens temperadas associadas à leguminosa e recebendo suplementação apresentam maior consumo de carboidratos não fibrosos e nutrientes digestíveis totais. Já bovinos mantidos em pastagens temperadas associadas à leguminosa não suplementados apresentam maior consumo de nitrogênio, retenção de nitrogênio, maior digestibilidade de nitrogênio, maior digestibilidade verdadeira do nitrogênio melhor eficiência de utilização do nitrogênio. Portanto o melhor aproveitamento do N ingerido é para animais sem suplementação.

Os animais que recebem dietas sem suplementação mantem uma concentração de pH e amônia mais elevados em relação as dietas contendo suplementação, já a dieta suplementada e com consorcio com ervilhaca possui um teor de açúcares totais, peptídeos e α -amino superior as demais dietas. Dessa maneira a melhor dieta para manter os parâmetros ruminais em níveis altos, que serão posteriormente aproveitados pelo animal é a dieta em que há consorcio com a leguminosa e suplementação energética.

Dietas que contem gramíneas temperadas e suplementação, dietas contendo gramíneas temperadas consorciadas com leguminosa e suplementação, e gramíneas temperadas consorciadas com leguminosa, não exercem influencia sobre os DP a síntese de PM.

5. APÊNDICES

Apêndice A: Dados utilizados para análise estatística do consumo de nutrientes por dia (tabela 2).

animal nº	piquete	período	tratamento	CMS (g/dia)	CMO (g/dia)	CFDN (g/dia)	CNDT real (g/dia)	CCNF (g/dia)
327	1	1	AVAZS	9906,69	8458,31	3614,71	6138,39	4774,70
363	2	1	AVAZE	11188,48	9245,08	5652,10	6533,44	3012,43
369	3	1	AVAZES	11265,21	9370,07	4667,92	6741,48	4367,03
336	4	1	AVAZES	8774,72	7306,50	3565,42	5285,04	3505,09
346	5	1	AVAZE	8448,89	6981,35	4268,14	4811,72	2274,81
364	8	1	AVAZS	7204,00	6150,75	2689,13	4572,84	3392,17
363	1	2	AVAZS	14671,04	12397,78	6325,93	9172,24	5647,19
369	2	2	AVAZE	10927,41	9136,18	5005,40	6653,30	3311,83
327	3	2	AVAZES	13818,36	11727,01	5234,26	8545,00	6015,00
364	4	2	AVAZES	12145,97	10298,31	4755,38	7349,26	5054,22
336	5	2	AVAZE	13656,15	11417,62	6255,33	8079,06	4138,85
346	8	2	AVAZS	14906,36	12591,85	6503,54	9463,71	5633,56
369	1	3	AVAZS	9958,10	8523,09	3843,36	5984,49	4531,84
346	3	3	AVAZES	14042,24	12063,63	6205,30	7618,45	5826,79
363	4	3	AVAZES	10552,74	9036,81	4392,38	5956,42	4666,24
364	5	3	AVAZE	11849,49	10066,73	6237,14	6421,32	3792,06
327	7	3	AVAZE	9993,34	8489,83	5260,13	5609,36	3198,06
336	8	3	AVAZS	15382,22	13221,76	6379,99	9047,56	6469,83

Apêndice B: Dados utilizados para análise estatística do balanço de N (tabela 3).

animal n°	piquete	período	tratamento	CN (g/d)	RN (g/d)	DN (g/kg)	DVN (g/kg)	EUN
327	1	1	AV+AZ+SUPL	183,44	72,17	39,34	82,63	0,39
363	2	1	AV+AZ+ERV	384,42	279,49	72,71	93,17	0,73
369	3	1	AV+AZ+ERV+SUPL	298,20	242,41	81,29	89,91	0,81
336	4	1	AV+AZ+ERV+SUPL	226,93	162,11	71,44	89,21	0,71
346	5	1	AV+AZ+ERV	290,29	229,35	79,01	93,62	0,79
364	8	1	AV+AZ+SUPL	136,24	75,76	55,61	80,93	0,56
363	1	2	AV+AZ+SUPL	336,08	242,73	72,22	88,05	0,72
369	2	2	AV+AZ+ERV	362,08	307,45	84,91	94,36	0,85
327	3	2	AV+AZ+ERV+SUPL	349,75	252,31	72,14	89,55	0,72
364	4	2	AV+AZ+ERV+SUPL	321,01	220,21	68,60	88,73	0,69
336	5	2	AV+AZ+ERV	452,50	354,20	78,28	94,30	0,78
346	8	2	AV+AZ+SUPL	345,59	263,43	76,23	89,57	0,76
369	1	3	AV+AZ+SUPL	183,41	114,17	62,25	81,63	0,62
346	3	3	AV+AZ+ERV+SUPL	253,46	122,47	48,32	72,99	0,48
363	4	3	AV+AZ+ERV+SUPL	184,52	85,02	46,08	76,05	0,46
364	5	3	AV+AZ+ERV	237,01	124,00	52,32	85,88	0,52
327	7	3	AV+AZ+ERV	199,89	108,70	54,38	89,83	0,54
336	8	3	AV+AZ+SUPL	298,08	185,85	62,35	83,57	0,62

Apêndice C: Dados utilizados para análise estatística dos parâmetros ruminais (tabela 4).

Animal nº	piquete	período	tratamento	horário	pH	amônia	açúcares totais	α -amino	peptídeos
327	1	1	AVAZS	0 h	7,16	10,68	150,69	5,64	90,46
327	1	1	AVAZS	2 h	6,51	15,34	86,31	6,58	105,93
327	1	1	AVAZS	4 h	6,6	12,94	127,83	5,39	115,05
327	1	1	AVAZS	6 h	7,08	20,57	73,88	5,83	82,42
327	1	1	AVAZS	8 h	6,55	20,76	79,03	5,59	114,85
327	1	1	AVAZS	10 h	6,5	15,58	110,85	6,57	77,58
327	1	1	AVAZS	12 h	6,69	17,73	106,01	5,48	80,38
327	1	1	AVAZS	14 h	6,62	15,64	127,22	6,13	79,73
327	1	1	AVAZS	16 h	6,18	36,75	119,95	4,99	75,40
327	1	1	AVAZS	18 h	6,52	.	.	4,64	73,70
327	1	1	AVAZS	20 h	6,98	4,39	77,82	4,82	76,59
327	1	1	AVAZS	22 h	7,35	8,92	73,88	4,32	76,07
364	8	1	AVAZS	0 h	7,3	10,04	98,43	5,11	110,82
364	8	1	AVAZS	2 h	6,77	15,58	92,06	4,66	106,48
364	8	1	AVAZS	4 h	6,42	15,42	75,39	6,00	72,68
364	8	1	AVAZS	6 h	6,43	6,88	117,22	5,86	.
364	8	1	AVAZS	8 h	6,3	9,16	126,92	6,23	91,24
364	8	1	AVAZS	10 h	6,54	2,20	81,46	6,60	53,63
364	8	1	AVAZS	12 h	6,53	3,13	71,45	5,81	81,07
364	8	1	AVAZS	14 h	6,91	20,07	148,44	6,65	73,74
364	8	1	AVAZS	16 h	7	5,16	69,94	6,35	68,57
364	8	1	AVAZS	18 h	6,58	5,22	143,28	5,19	36,93
364	8	1	AVAZS	20 h	7,23	8,64	91,76	5,16	86,01
364	8	1	AVAZS	22 h	6,91	12,93	79,64	4,66	19,35
363	2	1	AVAZE	0 h	7,21	28,41	31,45	6,00	.

363	2	1	AVAZE	2 h	7,19	21,98	23,57	5,75	84,76
363	2	1	AVAZE	4 h	6,96	29,35	77,52	5,66	76,19
363	2	1	AVAZE	6 h	7,19	23,56	59,94	6,20	18,84
363	2	1	AVAZE	8 h	6,76	32,08	86,91	7,24	13,70
363	2	1	AVAZE	10 h	6,89	23,22	63,88	7,55	8,26
363	2	1	AVAZE	12 h	6,92	18,53	76,00	5,18	37,63
363	2	1	AVAZE	14 h	6,9	16,82	89,34	5,58	20,48
363	2	1	AVAZE	16 h	7,04	17,69	69,94	5,83	36,98
363	2	1	AVAZE	18 h	6,77	10,68	37,51	4,94	25,22
363	2	1	AVAZE	20 h	7,08	6,22	56,30	4,89	24,93
363	2	1	AVAZE	22 h	6,75	16,65	63,57	4,84	59,83
346	5	1	AVAZE	0 h	7,18	18,59	47,51	7,42	27,18
346	5	1	AVAZE	2 h	7	20,45	64,79	5,88	29,07
346	5	1	AVAZE	4 h	6,98	31,49	94,19	.	.
346	5	1	AVAZE	6 h	6,97	19,15	70,24	6,45	59,25
346	5	1	AVAZE	8 h	6,84	29,93	60,24	5,43	50,70
346	5	1	AVAZE	10 h	6,56	31,37	111,76	6,48	35,30
346	5	1	AVAZE	12 h	6,91	28,28	64,18	7,69	97,30
346	5	1	AVAZE	14 h	6,82	27,61	152,98	6,57	89,88
346	5	1	AVAZE	16 h	6,44	32,21	132,37	6,00	103,09
346	5	1	AVAZE	18 h	6,65	22,08	100,25	5,95	98,36
346	5	1	AVAZE	20 h	7,02	23,66	90,55	7,92	83,40
346	5	1	AVAZE	22 h	7,02	23,07	69,94	7,55	164,75
369	3	1	AVAZES	0 h	7,36	5,30	41,75	6,82	130,98
369	3	1	AVAZES	2 h	6,42	.	.	6,83	111,14
369	3	1	AVAZES	4 h	6,27	13,93	59,94	6,58	137,36
369	3	1	AVAZES	6 h	5,51	2,34	123,89	7,96	.

369	3	1	AVAZES	8 h	6,12	6,85	134,49	6,25	189,29
369	3	1	AVAZES	10 h	6,19	8,41	146,31	5,54	144,27
369	3	1	AVAZES	12 h	5,58	22,23	123,89	6,55	130,38
369	3	1	AVAZES	14 h	6,66	3,24	101,46	6,92	119,05
369	3	1	AVAZES	16 h	6,52	.	.	6,73	92,91
369	3	1	AVAZES	18 h	6,25	8,12	168,74	5,36	84,96
369	3	1	AVAZES	20 h	6,77	5,70	119,64	6,57	82,94
369	3	1	AVAZES	22 h	6,5	13,68	138,43	6,21	94,80
336	4	1	AVAZES	0 h	7,03	14,21	80,55	6,43	98,70
336	4	1	AVAZES	2 h	6,72	7,36	80,24	5,96	96,15
336	4	1	AVAZES	4 h	6,42	7,85	59,03	5,54	109,18
336	4	1	AVAZES	6 h	6,75	9,38	85,09	6,10	87,79
336	4	1	AVAZES	8 h	6,09	24,43	140,86	5,91	108,26
336	4	1	AVAZES	10 h	6,01	16,23	136,92	8,46	187,41
336	4	1	AVAZES	12 h	6,58	14,83	120,55	.	.
336	4	1	AVAZES	14 h	6,54	15,80	84,79	7,13	88,40
336	4	1	AVAZES	16 h	6,58	7,50	105,40	6,57	106,24
336	4	1	AVAZES	18 h	6,64	3,58	82,06	6,33	76,59
336	4	1	AVAZES	20 h	6,98	7,52	159,22	6,23	54,21
336	4	1	AVAZES	22 h	6,71	9,46	60,24	6,77	.
363	1	2	AVAZS	0 h	6,12	4,96	122,98	4,82	49,86
363	1	2	AVAZS	2 h	6,67	4,49	108,73	5,18	68,03
363	1	2	AVAZS	4 h	5,96	3,30	95,70	5,80	82,04
363	1	2	AVAZS	6 h	6,65	5,32	117,52	5,88	65,33
363	1	2	AVAZS	8 h	6,67	6,19	170,26	5,43	55,01
363	1	2	AVAZS	10 h	6,23	11,47	145,41	6,23	61,61
363	1	2	AVAZS	12 h	6,35	9,45	83,88	6,88	65,62

363	1	2	AVAZS	14 h	6,39	8,68	155,41	4,96	78,89
363	1	2	AVAZS	16 h	6,52	6,80	153,59	5,29	71,90
363	1	2	AVAZS	18 h	6,65	4,80	119,34	5,14	66,73
363	1	2	AVAZS	20 h	6,48	5,08	154,19	5,78	.
363	1	2	AVAZS	22 h	6,96	14,35	98,73	7,99	36,00
346	8	2	AVAZS	0 h	6,47	9,38	187,73	5,19	48,12
346	8	2	AVAZS	2 h	6,51	9,96	57,72	5,78	61,44
346	8	2	AVAZS	4 h	6,39	4,37	132,34	6,85	54,38
346	8	2	AVAZS	6 h	6,74	6,99	85,15	6,68	72,67
346	8	2	AVAZS	8 h	6,27	8,94	69,61	6,58	.
346	8	2	AVAZS	10 h	6,34	5,81	82,41	7,96	64,55
346	8	2	AVAZS	12 h	6,4	3,16	105,27	6,23	66,31
346	8	2	AVAZS	14 h	6,7	3,16	65,34	6,48	103,03
346	8	2	AVAZS	16 h	6,64	7,47	68,08	8,64	66,33
346	8	2	AVAZS	18 h	6,5	3,45	79,36	7,84	60,01
346	8	2	AVAZS	20 h	6,72	1,49	86,37	8,04	.
346	8	2	AVAZS	22 h	7,08	5,93	79,06	6,68	44,99
336	2	2	AVAZE	0 h	6,44	14,14	44,00	5,88	84,62
336	2	2	AVAZE	2 h	6,62	23,21	102,53	6,16	74,36
336	2	2	AVAZE	4 h	6,43	19,10	49,79	6,58	75,94
336	2	2	AVAZE	6 h	6,14	31,21	84,85	6,31	100,82
336	2	2	AVAZE	8 h	6,53	18,71	100,70	6,26	144,65
336	2	2	AVAZE	10 h	6,53	26,97	140,02	4,89	74,19
336	2	2	AVAZE	12 h	6,3	18,31	81,19	4,87	66,81
336	2	2	AVAZE	14 h	6,2	21,34	97,96	5,64	72,34
336	2	2	AVAZE	16 h	6,53	11,44	146,76	.	.
336	2	2	AVAZE	18 h	6,91	7,22	127,42	5,34	58,94

336	2	2	AVAZE	20 h	6,84	9,71	54,98	5,21	132,27
336	2	2	AVAZE	22 h	6,61	18,40	108,32	5,38	53,14
369	5	2	AVAZE	0 h	6,71	18,08	75,40	6,95	64,46
369	5	2	AVAZE	2 h	6,69	16,31	77,23	7,08	62,13
369	5	2	AVAZE	4 h	6,59	13,70	84,15	7,10	53,34
369	5	2	AVAZE	6 h	6,26	8,11	250,01	8,16	84,36
369	5	2	AVAZE	8 h	6,43	32,52	149,71	7,77	145,93
369	5	2	AVAZE	10 h	6,48	20,44	134,63	7,24	59,51
369	5	2	AVAZE	12 h	6,19	20,83	150,04	7,39	.
369	5	2	AVAZE	14 h	6,67	20,03	178,23	7,12	73,88
369	5	2	AVAZE	16 h	6,58	13,84	166,75	.	.
369	5	2	AVAZE	18 h	6,51	15,97	142,50	5,06	65,48
369	5	2	AVAZE	20 h	6,7	16,24	173,97	7,42	46,44
369	5	2	AVAZE	22 h	6,7	18,35	119,55	6,98	55,10
327	3	2	AVAZES	0 h	6,35	3,02	99,23	7,87	93,69
327	3	2	AVAZES	2 h	6,31	3,26	252,63	5,53	66,35
327	3	2	AVAZES	4 h	5,68	1,68	264,11	5,63	42,96
327	3	2	AVAZES	6 h	6,12	11,29	270,01	6,78	88,38
327	3	2	AVAZES	8 h	5,61	7,04	510,60	6,75	85,08
327	3	2	AVAZES	10 h	5,65	4,43	292,30	7,79	47,72
327	3	2	AVAZES	12 h	6,43	3,79	181,78	6,16	43,09
327	3	2	AVAZES	14 h	5,49	3,35	203,12	7,67	118,29
327	3	2	AVAZES	16 h	6,55	7,90	276,56	6,45	98,69
327	3	2	AVAZES	18 h	6,76	3,58	148,25	6,80	59,09
327	3	2	AVAZES	20 h	6,97	2,21	217,23	6,33	63,55
327	3	2	AVAZES	22 h	6,61	5,54	161,97	6,73	40,00
364	4	2	AVAZES	0 h	6,15	6,42	70,52	7,60	68,19

364	4	2	AVAZES	2 h	6,29	9,08	68,39	8,36	.
364	4	2	AVAZES	4 h	6,2	5,15	164,46	8,96	133,45
364	4	2	AVAZES	6 h	6,36	18,04	63,82	8,83	74,10
364	4	2	AVAZES	8 h	6,16	16,46	126,92	5,66	86,84
364	4	2	AVAZES	10 h	5,83	12,39	136,67	8,96	117,55
364	4	2	AVAZES	12 h	5,89	8,57	105,27	5,41	.
364	4	2	AVAZES	14 h	6,46	11,00	86,07	8,89	.
364	4	2	AVAZES	16 h	6,3	9,38	181,83	7,00	.
364	4	2	AVAZES	18 h	6,72	3,91	82,41	8,41	120,85
364	4	2	AVAZES	20 h	6,73	3,67	54,06	7,89	127,67
364	4	2	AVAZES	22 h	6,9	13,74	142,77	8,47	115,84
336	1	3	AVAZS	0 h	6,15	6,99	110,15	8,22	31,11
336	1	3	AVAZS	2 h	5,91	13,79	89,42	8,49	44,27
336	1	3	AVAZS	4 h	5,35	5,88	101,92	8,04	37,32
336	1	3	AVAZS	6 h	6,1	14,37	84,54	8,02	48,31
336	1	3	AVAZS	8 h	5,96	16,83	77,23	7,57	47,94
336	1	3	AVAZS	10 h	5,67	13,31	103,75	8,39	61,10
336	1	3	AVAZS	12 h	5,42	17,38	163,49	8,73	80,23
336	1	3	AVAZS	14 h	6,08	8,30	88,51	7,62	47,06
336	1	3	AVAZS	16 h	5,83	6,05	96,43	9,33	.
336	1	3	AVAZS	18 h	5,83	7,96	121,43	9,01	42,11
336	1	3	AVAZS	20 h	6,19	7,99	176,92	8,11	.
336	1	3	AVAZS	22 h	6,37	10,29	64,12	7,82	46,04
369	8	3	AVAZS	0 h	6,06	4,03	32,72	10,32	42,74
369	8	3	AVAZS	2 h	5,81	5,56	51,62	5,54	76,23
369	8	3	AVAZS	4 h	5,7	3,99	49,79	6,26	55,13
369	8	3	AVAZS	6 h	5,89	4,93	55,89	5,88	41,92

369	8	3	AVAZS	8 h	6,38	6,71	87,90	5,51	60,82
369	8	3	AVAZS	10 h	6,09	2,60	22,36	5,90	51,79
369	8	3	AVAZS	12 h	5,78	5,30	101,92	5,91	50,85
369	8	3	AVAZS	14 h	6,54	6,22	85,46	5,81	50,02
369	8	3	AVAZS	16 h	6,39	5,06	69,30	4,87	45,40
369	8	3	AVAZS	18 h	6,44	4,28	160,20	5,98	53,25
369	8	3	AVAZS	20 h	6,47	4,37	84,54	5,13	55,96
369	8	3	AVAZS	22 h	6,25	11,70	114,14	4,77	52,91
327	7	3	AVAZE	0 h	6,6	16,92	157,49	4,79	72,66
327	7	3	AVAZE	2 h	6,48	11,83	117,43	4,57	61,45
327	7	3	AVAZE	4 h	6,63	13,40	70,19	4,86	72,34
327	7	3	AVAZE	6 h	6,72	5,49	90,82	5,49	63,31
327	7	3	AVAZE	8 h	6,6	17,21	115,93	6,52	76,00
327	7	3	AVAZE	10 h	6,65	11,41	72,88	5,53	66,67
327	7	3	AVAZE	12 h	6,67	4,04	71,68	6,10	50,66
327	7	3	AVAZE	14 h	6,74	7,75	140,75	6,73	63,30
327	7	3	AVAZE	16 h	6,69	8,43	83,34	4,79	52,89
327	7	3	AVAZE	18 h	6,9	7,95	123,11	5,06	48,92
327	7	3	AVAZE	20 h	6,81	8,66	138,95	5,18	60,85
327	7	3	AVAZE	22 h	6,71	13,72	121,61	5,19	67,62
364	5	3	AVAZE	0 h	6,4	8,74	69,29	4,74	16,82
364	5	3	AVAZE	2 h	6,52	11,29	121,61	5,56	22,17
364	5	3	AVAZE	4 h	6,67	11,70	115,63	4,42	27,01
364	5	3	AVAZE	6 h	6,16	6,93	201,83	6,35	24,47
364	5	3	AVAZE	8 h	6,24	8,93	178,55	5,96	12,20
364	5	3	AVAZE	10 h	6,11	6,42	95,90	6,62	23,28
364	5	3	AVAZE	12 h	6,5	5,44	108,46	6,41	29,65

364	5	3	AVAZE	14 h	6,53	6,15	88,73	5,86	22,80
364	5	3	AVAZE	16 h	6,2	6,04	92,31	6,70	19,80
364	5	3	AVAZE	18 h	6,94	7,54	67,80	5,66	24,85
364	5	3	AVAZE	20 h	6,61	8,44	96,20	5,85	56,47
364	5	3	AVAZE	22 h	6,3	7,68	83,94	5,81	50,33
363	3	3	AVAZES	0 h	6,22	8,22	141,94	6,01	31,91
363	3	3	AVAZES	2 h	5,78	6,22	101,58	5,86	19,40
363	3	3	AVAZES	4 h	5,98	4,91	194,62	5,85	40,10
363	3	3	AVAZES	6 h	5,81	4,36	132,38	8,17	20,79
363	3	3	AVAZES	8 h	5,89	9,68	229,25	7,12	42,23
363	3	3	AVAZES	10 h	6,18	6,38	111,75	6,41	35,83
363	3	3	AVAZES	12 h	6,07	8,33	138,95	5,26	23,09
363	3	3	AVAZES	14 h	6,33	6,74	164,97	5,71	25,11
363	3	3	AVAZES	16 h	6,53	6,69	185,00	6,47	28,37
363	3	3	AVAZES	18 h	6,45	5,07	165,86	6,11	31,81
363	3	3	AVAZES	20 h	6,64	7,69	237,56	7,69	37,03
363	3	3	AVAZES	22 h	6,21	10,79	106,66	7,42	32,66
346	4	3	AVAZES	0 h	6,31	7,47	160,18	7,10	60,78
346	4	3	AVAZES	2 h	6,02	6,12	146,43	7,64	28,12
346	4	3	AVAZES	4 h	6,26	4,94	79,16	7,35	36,13
346	4	3	AVAZES	6 h	6,19	11,26	188,29	8,21	63,37
346	4	3	AVAZES	8 h	5,7	12,86	197,26	8,73	36,61
346	4	3	AVAZES	10 h	6,32	7,22	199,86	8,19	51,04
346	4	3	AVAZES	12 h	6,04	7,19	121,02	8,37	31,09
346	4	3	AVAZES	14 h	6,13	7,42	129,69	7,57	50,33
346	4	3	AVAZES	16 h	6,46	5,85	150,32	7,54	18,65
346	4	3	AVAZES	18 h	6,39	4,07	141,52	7,90	18,59

346	4	3	AVAZES	20 h	6,58	4,71	171,02	7,64	28,31
346	4	3	AVAZES	22 h	6,09	7,93	211,01	7,47	33,54

Apêndice D: Dados utilizados para análise estatística da síntese microbiana (tabela 5).

animal n°	piquete	período	tratamento	CRE ¹ (mg/L)	PU (L/dia)	ALA(mg/kgPV)	ALA(mmol/d)	AU (mg/d)	AU (mmol/d)	PA (mmol/d)	SM de N (g/d)	SM de PB (g/d)
327	1	1	AVAZS	593,02	21,40	69,75	291,34	2584,18	22,97	306,02	222,49	1390,58
363	2	1	AVAZE	345,67	27,34	52,88	164,49	1772,37	15,75	184,36	134,04	837,72
369	3	1	AVAZES	564,48	16,26	21,07	63,67	764,90	6,80	90,38	65,71	410,71
336	4	1	AVAZES	497,89	15,73	61,05	157,35	1459,37	12,97	171,83	124,92	780,78
346	5	1	AVAZE	615,22	13,60	28,08	77,37	882,01	7,84	100,87	73,34	458,37
364	8	1	AVAZS	1533,30	5,63	53,79	152,97	1747,78	15,53	172,35	125,31	783,18
363	1	2	AVAZS	529,60	16,98	81,13	240,09	2114,93	18,80	250,07	181,81	1136,31
369	2	2	AVAZE	574,00	15,71	70,71	209,89	579,17	5,15	212,86	154,76	967,23
327	3	2	AVAZES	895,88	13,20	29,40	114,45	2265,33	20,13	151,26	109,97	687,32
364	4	2	AVAZES	846,72	10,11	24,01	67,65	2171,59	19,30	102,83	74,76	467,27
336	5	2	AVAZE	337,74	24,78	64,13	176,68	1480,65	13,16	189,81	138,00	862,48
346	8	2	AVAZS	562,90	14,87	32,29	88,97	1928,00	17,13	118,64	86,25	539,09
369	1	3	AVAZS	583,51	15,27	67,37	197,57	834,66	7,42	204,05	148,35	927,22
346	3	3	AVAZES	442,39	18,92	63,45	174,80	1900,02	16,89	191,38	139,14	869,62
363	4	3	AVAZES	401,16	22,88	78,39	236,87	1919,89	17,06	246,33	179,09	1119,34
364	5	3	AVAZE	602,54	14,12	55,27	154,72	2117,30	18,82	176,29	128,17	801,08
327	7	3	AVAZE	715,12	17,37	51,47	210,41	1390,90	12,36	227,60	165,47	1034,20
336	8	3	AVAZS	534,36	15,16	39,41	105,07	1368,11	12,16	127,40	92,62	578,89

¹ creatinina (CRE), produção urinária (PU), alantoína (ALA), ácido úrico (AU), purinas absorvidas (PA), síntese microbiana (SM).

6. ANEXOS

Anexo A: Normas para publicação de artigos científicos da revista Brasileira de Zootecnia.



Instructions to Authors – 2015¹

Topics:

1. Scope	1
2. Editorial policies	1
2.1. Open access and peer review	1
2.2. Assurance of contents and assignment of copyright	2
2.3. Language	2
2.4. Publication costs	2
2.5. Care and use of animals	2
2.6. Types of articles	3
3. Guidelines to prepare the manuscript	3
3.1. Structure of a full-length research article	3
3.2. Structure of the article for short communication and technical note	7
3.3. Additional guidelines for style and units – Use of percentage	7
3.4. Additional guidelines for style and units – Representation of dispersion	8
3.5. Additional guidelines for style and units – Use of abbreviations	12
4. Guidelines to submit the manuscript	15
4.1. The Manuscript Central™ online system	15
4.2. The cover letter	16

1. Scope

Revista Brasileira de Zootecnia-Brazilian Journal of Animal Science (RBZ) encompasses all fields of Animal Science Research. The RBZ publishes original scientific articles in the areas of Aquaculture; Forage; Animal Genetics and Breeding; Animal Reproduction; Ruminant and Non-Ruminant Nutrition; Animal Production Systems and Agribusiness.

2. Editorial policies

2.1. Open access and peer review

The RBZ is sponsored by the Brazilian Society of Animal Science, which provides readers or their institutions with free access to peer-reviewed articles published online by RBZ. Users have the right to read, download, copy, distribute, print, search, or link to the full texts of

articles. *Revista Brasileira de Zootecnia* is included in the Directory of Open Access Journals (DOAJ).

All the contents of this journal, except where otherwise noted, are licensed under a Creative Commons attribution-type BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

A peer-review system is exerted on manuscripts sent for appreciation to maintain standards of quality, improve performance, and provide credibility. We use the double-blind style of reviewing by concealing the identity of the authors from the reviewers, and vice versa. Communication with authors should only be through the Scientific Editor (named as Editor-in-chief). Authors are given the chance to designate names to be considered by the Editor-in-chief as preferred or non-preferred reviewers. Reviewers should notify the editor about conflicts of interest (either positive or negative) that may compromise their ability to provide a fair and an unbiased review.

¹ Revised September 2015.

2.2. Assurance of contents and assignment of copyright

When submitting a manuscript for review, authors should make sure that the results of the work are original, and that the total or partial content of the manuscript, regardless of the language, has not been/ is not being considered for publication in any other scientific journal. Additionally, the authors assure that if they have used the work and/or words of others this has been appropriately cited or quoted warranting absence of plagiarism, which constitutes unethical publishing behavior.

Papers already published or that have been submitted to any other journal will not be accepted. Fractioned or subdivided studies should be submitted together because they will be assigned to the same reviewers.

The content of the articles published by *Revista Brasileira de Zootecnia* is of sole responsibility of their authors.

Authors who have a manuscript approved by RBZ are also requested to authorize that the right of total or partial electronic and graphic reproduction (copyright) of the paper be transferred to the Brazilian Society of Animal Science, which ensure us the rights necessary for the proper administration of electronic rights and online dissemination of journal articles.

After completing the submission of the manuscript by using the Manuscript Central™ online system, the corresponding author will be asked to upload the file named Assurance of Contents and Copyright and will be responsible for obtaining the signatures of all co-authors. A template with the same name has been already prepared by the Brazilian Society of Animal Science and is available on the journal website at <http://www.revista.sbz.org.br/assurance-of-contents/?idiom=en>.

The original text of the template must not be altered but only completed with the necessary information. All authors are invited to fill it out properly, sign it, scan and email it to RBZ's office by: secretariarbz@sbz.org.br confirming or even disagreeing with their participation in the manuscript.

The manuscript will not be considered for peer reviewing without this form. The deadline will be set allowing a period of 15 days for delivery of forms, after which the editorial office will act by withdrawing the manuscript.

2.3. Language

Submissions will only be accepted in the English language (either American or British spelling). The editorial board of RBZ reserves the right to demand that authors revise the translation or to cancel the processing of the manuscript if the English version submitted contains errors of spelling, punctuation, grammar, terminology, jargons or semantics that can either compromise good understanding or not follow the journal's standards. It is strongly recommended that the translation process be performed by native speakers of English.

2.4. Publication costs

The payment of the processing fee is a prerequisite for submitting manuscripts to referees. Authors will be charged the amount of R\$ 53.00 (Fifty-three Brazilian Reals and no cents) per manuscript, which must be done by credit card, accordingly to guidance available on the SBZ website (www.sbz.org.br).

The current charge for publication is different for members and non-members of the BSAS. Considering full-length articles, the fee for members is R\$ 160.00 (up to 8 pages in the final format) and R\$ 59.00 for each extra page. Once the manuscript is approved, all authors must meet the deadline of current year's membership fee, except for the co-authors who do not work directly in that area, provided they are not the first author and have not published more than one article in the year in question (recurrence). For non-members of BSAS, there is a charge of R\$ 128.00 per page (up to 8 pages in the final format) and R\$ 251.00 for each page that exceeds it.

2.5. Care and use of animals

The *Revista Brasileira de Zootecnia* is committed to the highest ethical standards of animal care and use. Research presented in manuscripts reporting the use of animals must guarantee to have been conducted in accordance with applicable federal, state, and local laws, regulations, and policies governing the care and use of animals. The author should ensure that the manuscript contains a statement that all procedures were performed in compliance with relevant laws and institutional guidelines and, whenever pertinent, that the appropriate institutional committee(s) has approved them before commencement of the study.

2.6. Types of articles

Full-length research article

A full-length research paper provides a complete account of the experimental work. The text should represent the research process and foster its cohesive understanding and a coherent explanation regarding all the experimental procedures and results and must provide the minimal information necessary for an independent reproduction of the research.

Short communication

A succinct account of the final results of an experimental work, which has full justification for publication, although with a volume of information which is not sufficient to be considered a full-length research article. The results used as the basis to prepare the short communication cannot be used subsequently, neither partially nor wholly, for the presentation of a full-length article.

Technical note

An evaluation report or proposition of a method, procedure or technique that correlates with the scope of RBZ. Whenever possible, one should show the advantages and disadvantages of the new method, procedure or technique proposed, as well as its comparison with those previously or currently employed, presenting the proper scientific rigor in analysis, comparison, and discussion of results.

Board-invited reviews

An approach that represents state-of-the-art or critical view of issues of interest and relevance to the scientific community. It can only be submitted by invitation of the editorial board of RBZ. The invited reviews will be subjected to the peer-review process.

Editorial

Notes to clarify and establish technical guidelines and/or philosophy for designing and making of articles to be submitted and evaluated by RBZ. The editorials will be drafted by or at the invitation of the editorial board of RBZ.

3. Guidelines to prepare the manuscript

3.1. Structure of a full-length research article

Figures, Tables, and Acknowledgments should be sent as separated files and not as part of the body of the manuscript.

The article is divided into sections with centered headings, in bold, in the following order: Abstract, Introduction, Material and Methods, Results, Discussion (or Results and Discussion), Conclusions, Acknowledgments (optional) and References. The heading is not followed by punctuation.

3.1.1. Manuscript format

The text should be typed by using Times New Roman font at 12 points, double-space (except for Abstract and Tables, which should be set at 1.5 space), and top, bottom, left and right margins of 2.5, 2.5, 3.5, and 2.5 cm, respectively.

The text should contain up to 25 pages, sequentially numbered in arabic numbers at the bottom, leaving the authors to bear the additional costs of publishing extra pages at the time of publication (see publication costs). The file must be edited by using Microsoft Word® software.

3.1.2. Title

The title should be precise and informative, with no more than 20 words. It should be typed in bold and centered as the example: **Nutritional value of sugar cane for ruminants**. Names of sponsor of grants for the research should always be presented in the Acknowledgments section.

3.1.3. Authors

The name and institutions of authors will be requested at the submission process; therefore they should not be presented in the body of the manuscript. Please see the topic 4. Guidelines to submit the manuscript for details.

The listed authors should be no more than eight.

Spurious and "ghost" authorships constitute an unethical behavior. Collaborative inputs, hand labor, and other types of work that do not imply intellectual contribution may be mentioned in the Acknowledgments section.

3.1.4. Abstract

The abstract should contain no more than 1,800 characters including spaces in a single paragraph. The information in the abstract must be precise. Extensive abstracts will be returned to be adequate with the guidelines.

The abstract should summarize the objective, material and methods, results and conclusions. It should not contain any introduction. References are never cited in the abstract.

The text should be justified and typed at 1.5 space and come at the beginning of the manuscript with the word ABSTRACT

capitalized, and initiated at 1.0 cm from the left margin. To avoid redundancy the presentation of significance levels of probability is not allowed in this section.

3.1.5. Key Words

At the end of the abstract list at least three and no more than six key words, set off by commas and presented in alphabetical order. They should be elaborated so that the article is quickly found in bibliographical research. The key words should be justified and typed in lowercase. There must be no period mark after key words.

3.1.6. Introduction

The introduction should not exceed 2,500 characters with spaces, briefly summarizing the context of the subject, the justifications for the research and its objectives; otherwise it will be rerouted for adaptation. Discussion based on references to support a specific concept should be avoided in the introduction.

Inferences on results obtained should be presented in the Discussion section.

3.1.7. Material and Methods

Whenever applicable, describe at the beginning of the section that the work was conducted in accordance with ethical standards and approved by the Ethics and Biosafety Committee of the institution.

A clear description on the specific original reference is required for biological, analytical and statistical procedures. Any modifications in those procedures must be explained in detail.

3.1.8. Results and Discussion

In making this section, the author is granted to either combine the results with discussion or to write two sections by separating results and discussion (which is encouraged). Sufficient data, with means and some measure of uncertainty (standard error, coefficient of variation, confidence intervals, etc.) are mandatory, to provide the reader with the power to interpret the results of the experiment and make his own judgment. The additional guidelines for styles and units of RBZ should be checked for the correct understanding of the exposure of results in tables. The Results section cannot contain references.

In the Discussion section, the author should discuss the results clearly and concisely and integrate the findings with the literature published to provide the reader with a broad base on which they will accept or reject the author's hypothesis.

Loose paragraphs and references presenting weak relationship with the problem being discussed must be avoided. Neither speculative ideas nor propositions about the hypothesis or hypotheses under study are encouraged.

3.1.9. Conclusions

Be absolutely certain that this section highlights what is new and the strongest and most important inferences that can be drawn from your observations. Include the broader implications of your results. The conclusions are stated by using the present tense.

3.1.10. Acknowledgments

This section is optional. It must come right after the conclusions.

The Acknowledgments section must not be included in the body of the manuscript; instead, a file named Acknowledgment should be prepared and then uploaded as an additional document during submission. This procedure helps RBZ to conceal the identity of authors from the reviewers.

3.1.11. Use of abbreviations

Author-derived abbreviations should be defined at first use in the abstract, and again in the body of the manuscript, and in each table and figure in which they are used.

The use of author-defined abbreviations and acronyms should be avoided, as for instance: T3 was higher than T4, which did not differ from T5 and T6. This type of writing is appropriate for the author, but of complex understanding by the readers, and characterizes a verbose and imprecise writing.

3.1.12. Tables and Figures

It is essential that tables be built by option "Insert Table" in distinct cells, on Microsoft Word® menu (No tables with values separated by the ENTER key or pasted as figure will be accepted). Tables and figures prepared by other means will be rerouted to author for adequacy to the journal guidelines.

Tables and figures should be numbered sequentially in Arabic numerals, presented as separate files to be uploaded, and must not appear in the body of the manuscript.

The title of the tables and figures should be short and informative, and the descriptions of the variables in the body of the table should be avoided.

In the graphs, designations of the variables on the X and Y axes should have their initials in capital letters and the units in parentheses.

Non-original figures, i.e., figures published elsewhere, are only allowed to be published in RBEZ with the express written consent of the publisher or copyright owner. It should contain, after the title, the source from where they were extracted, which must be cited.

The units and font (Times New Roman) in the body of the figures should be standardized.

The curves must be identified in the figure itself. Excessive information that compromises the understanding of the graph should be avoided.

Use contrasting markers such as circles, crosses, squares, triangles or diamonds (full or empty) to represent points of curves in the graph.

Figures should be built by using Microsoft Excel®, or even the software Corel Draw® (CDR extension) to allow corrections during copyediting, and uploaded as separate files, named Figures during submission. Use lines with at least 3/4 width. Figures should be used only in monochrome and without any 3-D or shade effects. Do not use bold in the figures.

The decimal numbers presented within the tables and figures must contain a point, not a comma mark.

Mathematical formulas and equations must be inserted in the text as an object and by using Microsoft Equation or a similar tool.

3.1.13. References

Reference and citations should follow the Name and Year System (Author-date)

3.1.14. Citations in the text

The author's citations in the text are in lowercase, followed by year of publication. In the case of two authors, use 'and'; in the case of three or more authors, cite only the surname of the first author, followed by the abbreviation et al.

Examples:

Single author: Silva (2009) or (Silva, 2009)

Two authors: Silva and Queiroz (2002) or (Silva and Queiroz, 2002)

Three or more authors: Lima et al. (2001) or (Lima et al., 2001)

The references should be arranged chronologically and then alphabetically within a year, using a semicolon (;) to separate multiple citations within parentheses, e.g.: (Carvalho, 1985; Britto, 1998; Carvalho et al., 2001).

Two or more publications by the same author or group of authors in the same year shall be differentiated by adding lowercase letters after the date, e.g., (Silva, 2004a,b).

Personal communication can only be used if strictly necessary for the development or understanding of the study. Therefore, it is not part of the reference list, so it is placed only as a footnote. The author's last name and first and middle initials, followed by the phrase "personal communication", the date of notification, name, state and country of the institution to which the author is bound.

3.1.15. References section

References should be written on a separate page, and by alphabetical order of surname of author(s), and then chronologically.

Type them single-spaced, justified, and indented to the third letter of the first word from the second line of reference.

All authors' names must appear in the References section.

The author is indicated by their last name followed by initials. Initials should be followed by period (.) and space; and the authors should be separated by semicolons. The word 'and' precedes the citation of the last author.

Surnames with indications of relatedness (Filho, Jr, Neto, Sobrinho, etc.) should be spelled out after the last name (e.g., Silva Sobrinho, J.).

Do not use ampersand (&) in the citations or in the reference list.

As in text citations, multiple citations of same author or group of authors in the same year shall be differentiated by adding lowercase letters after the date.

In the case of homonyms of cities, add the name of the state and country (e.g. Gainesville, FL, EUA; Gainesville, VA, EUA).

Sample references are given below.

Articles

The journal name should be written in full. In order to standardize this type of reference, it is not necessary to quote the website, only volume, page range and year. Do not use a comma (,) to separate journal title from its volume; separate periodical volume from page numbers by a colon (:).

Miotto, F. R. C.; Restle, J.; Neiva, J. N. M.; Castro, K. J.; Sousa, L. F.; Silva, R. O.; Freitas, B. B. and Leão, J. P. 2013. Replacement of corn by babassu mesocarp bran in diets for feedlot young bulls. *Revista Brasileira de Zootecnia* 42:213-219.

Articles accepted for publication should preferably be cited along with their DOI.

Fukushima, R. S. and Kerley, M. S. 2011. Use of lignin extracted from different plant sources as standards in the spectrophotometric acetyl bromide lignin method. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, doi: 10.1021/jf104826n (in press).

Books

If the entity is regarded as the author, the abbreviation should be written first accompanied by the corporate body name written in full.

In the text, the author must cite the method utilized, followed by only the abbreviation of the institution and year of publication.

e.g.: "...were used to determine the mineral content of the samples (method number 924.05; AOAC, 1990)".

Newmann, A. L. and Snapp, R. R. 1997. *Beef cattle*. 7th ed. John Wiley, New York.

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. 1990. *Official methods of analysis*. 15th ed. AOAC International, Arlington, VA.

Book chapters

The essential elements are: author (s), year, title and subtitle (if any), followed by the expression "In", and the full reference as a whole. Inform the page range after citing the title of the chapter.

Lindhal, I. L. 1974. Nutrición y alimentación de las cabras. p.425-434. In: *Fisiología digestiva y nutrición de los ruminantes*. 3rd ed. Church, D. C., ed. Acríbia, Zaragoza.

Theses and dissertations

It is recommended not to mention theses and dissertations as reference but always to look for articles published in peer-reviewed indexed journals. Exceptionally, if

necessary to cite a thesis or dissertation, please indicate the following elements: author, year, title, grade, university and location.

Castro, F. B. 1989. *Avaliação do processo de digestão do bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado em bovinos*. Dissertação (M.Sc.). Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Palhão, M. P. 2010. *Induced codominance and double ovulation and new approaches on luteolysis in cattle*. Thesis (D.Sc.). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brazil.

Bulletins and reports

The essential elements are: Author, year of publication, title, name of bulletin or report followed by the issue number, then the publisher and the city.

Goering, H. K. and Van Soest, P. J. 1970. *Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures, and some applications)*. Agriculture Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, D.C., USA.

Conferences, meetings, seminars, etc.

Quote a minimal work published as an abstract, always seeking to reference articles published in journals indexed in full.

Casaccia, J. L.; Pires, C. C. and Restle, J. 1993. Confinamento de bovinos inteiros ou castrados de diferentes grupos genéticos. p.468. In: *Anais da 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. Sociedade Brasileira de Zootecnia, Rio de Janeiro.

Weiss, W. P. 1999. Energy prediction equations for ruminant feeds. p.176-185. In: *Proceedings of the 61th Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. Cornell University, Ithaca.

Article and/or materials in electronic media

In the citation of bibliographic material obtained by the Internet, the author should always try to use signed articles, and also it is up to the author to decide which sources actually have credibility and reliability.

In the case of research consulted online, inform the address, which should be presented between the signs < >, preceded by the words "Available at" and the date of access to the document, preceded by the words "Accessed on:".

Rebollar, P. G. and Blas, C. 2002. Digestión de la soja integral en ruminantes. Available at: <http://www.ussoymeal.org/ruminant_5.pdf> Accessed on: Oct. 28, 2002.

Quotes on statistical software

The RBZ does not recommend bibliographic citation of software applied to statistical analysis. The use of programs must be informed in the text in the proper section, Material and Methods, including the specific procedure, the name of the software, its version and/or release year.

"... statistical procedures were performed using the MIXED procedure of SAS (Statistical Analysis System, version 9.2.)"

3.2. Structure of the article for short communication and technical note

The presentation of the title should be preceded by the indication of the type of manuscript whether it is a short communication or a technical note, which must be centered and bold.

The structures of short communications and technical notes will follow guidelines set up for full-length papers, limited, however, to 14 pages as the maximum tolerated for the manuscript.

Processing and publishing fees applied to communications and technical notes are the same for full-length papers, considering, however, the limit of four pages in its final form. A fee will be charged for publishing additional pages.

3.3. Additional guidelines for style and units – Use of percentage

Because of the intense use of units in percentage form (%), the Editorial Board of *Revista Brasileira de Zootecnia* defines that percentage should be exceptionally and seldom used only for description of relative variations (e.g., variation of a result obtained in a given treatment in relation to other treatment) and not as an absolute unit of measurement.

3.3.1. Chemical or feed composition of diets

Chemical compositions of diets or feedstuffs have to be expressed as mass contents, e.g., g kg⁻¹ of dry matter or g kg⁻¹ as fed.

Examples:

Food composition of the concentrate mixture supplied to animals

Item	Incorrect (%)	Correct (g kg ⁻¹ as fed)
Corn grain	70.0	700
Soybean meal	27.0	270
Urea	1.0	10
Mineral mixture	2.0	20

Chemical composition of corn silage

Item	Incorrect (%)	Correct (g kg ⁻¹ as fed)
Dry matter ¹	35.23	352.3
Organic matter ²	95.45	954.5
Crude protein ²	7.86	78.6
Ether extract ²	2.35	23.5
Neutral detergent fiber corrected for ash and protein ²	55.86	558.6
Non-fibrous carbohydrates ²	29.38	293.8
Non-protein nitrogen ³	32.45	324.5

¹ Incorrect: percent as fed. Correct: g kg⁻¹ as fed.

² Incorrect: dry matter percentage. Correct: g kg⁻¹ dry matter.

³ Incorrect: total nitrogen percentage. Correct: g kg⁻¹ total nitrogen.

3.3.2. Measures of intake

Measures of intake have to be expressed as mass consumed per mass unit per unit of time.

Example:

Incorrect: "... animals presented average intake of 2.52% of body weight..."

Correct: "... animals presented average intake of 25.2 g kg⁻¹ d⁻¹ of body weight..."

3.3.3. Units expressed as coefficients

In animal science, it is common to produce variables given by the ratio between two variables. Therefore, because they represent direct measures made at the experimental unit and not relative comparisons among different situations (e.g., among treatments), those variables have to be expressed as mass unit per mass unit.

Most common examples:

Measures of digestibility coefficients:

Incorrect: "... the apparent digestibility coefficient of dry matter was 62.5%..."

Correct: "... the apparent digestibility coefficient of dry matter was 0.625..." (In this example, because it is a fractional measure, it is understood that it is expressed as g g⁻¹ or kg kg⁻¹). Another possibility is to express it as 625.0 g kg⁻¹ of dry matter.

Measures of fractions in degradation assays or body fraction yields or microbial growth

Incorrect: "... estimate of potentially degradable insoluble fraction of protein was 36.2%..."

Correct: "... estimate of potentially degradable insoluble fraction of protein was 36.3 g/100 g..." Another possibility is to express it as 363.0 g kg⁻¹ of crude protein.

Incorrect: "...average carcass dressing was 52.1% of body weight..."

Correct: "...average carcass dressing was 52.1 kg/100 kg of body weight..."

Incorrect: "... a microbial yield efficiency of 12.53% in comparison with intake of total digestible nutrients..."

Correct: "... a microbial yield efficiency of 125.3 g of microbial protein per kg of total digestible nutrients..."

Rates or variations over time in enzymatic measures or degradation assays or transit in the gastrointestinal tract

Incorrect: "... passage rate of fibrous material in the rumen environment was 3.5%/h..."

Correct: "... passage rate of fibrous material in the rumen environment was 0.035 h⁻¹..." The number of decimal places to be presented should not exceed four; otherwise use scientific notation, i.e., $a \times 10^b$, or change the scale of measurements.

Coefficients of correlation and determination, and descriptive levels of probability

Coefficients of correlation and determination, and levels of probability are fractions and should not be expressed as percentage.

Incorrect: "... the coefficient of determination of the model was 92.53%..."

Correct: "... the coefficient of determination of the model was 0.9253..."

Incorrect: "... variables were strongly correlated ($r = -0.8239$)..."

Correct: "... variables were strongly correlated ($r = -0.8239$)..."

Incorrect: "... $\alpha = 5\%$..."

Correct: "... $\alpha = 0.05$..."

3.3.4. Correct use of percentages

As previously highlighted, percentage should be used only for description of relative variations. And it must be used with parsimony.

Example:

Table 1 - Serum urea nitrogen concentrations (SUN, mg dL⁻¹) ... in grazing cattle

Item	Supplement ¹			CV (%)
	Control	Protein	Starch	
SUN	9.5b	14.3a	9.4b	7.8

¹ Means within rows followed by different letters are different by the Tukey test ($P < 0.05$).

"...protein supplementation increased SUN concentration by 50.5% in relation to the control..."

3.4. Additional guidelines for style and units – Representation of dispersion

The clear, cohesive and correct representation of the results of a research paper is a key component of the characteristics that comprise comprehension, quality and reliability of the scientific publishing process.

However, the direct observation of the manuscripts submitted and the papers published by RBZ enlightens the plurality of the forms of exposure of the indicators of significance and dispersion (measures of uncertainty) of the results presented.

The Editorial Board of RBZ understands that the number of particularities in the form of exposing the results is directly proportional to the number of experimental designs and arrangements, as well as the number of statistical methods utilized.

Nevertheless, standard guidelines should and can be adopted by the authors in order to make the manner of exposure of the results more homogeneous. Thus, the guidelines presented below, which comprise the most common situations, must be followed by the authors for the correct establishment of the publishing style of Revista Brasileira de Zootecnia.

3.4.1. About the representation of the descriptive levels of probability for type I error (P-value)

Following the international trend of results exposure in research papers, the authors are recommended to present P-values from the statistical analyses to the readers, regardless of the critical level of probability adopted in the manuscript (α value). Whatever methods have been applied will not alter the discussion content at all. However, this makes the presentation of results more clear and allows the reader to make "judgments" on the results if they have a different view from that presented by the authors. Reference notes for significance (e.g., use of asterisks) should be avoided.

It is mandatory that the P-value be presented with three decimal places. It must not be displayed with 2 decimal places, for it can generate ambiguity of interpretation (e.g., let us suppose that one assumes $\alpha = 0.05$. If two variables tested independently present P-values of 0.049 and 0.051, the rounding off for the two decimal places will make a P-value of 0.05 for both; however, one shows significant effect, whereas the other does not.)

3.4.2. About the critical level of probability (the α value) adopted in the manuscript and the significance representation throughout the text

For the right discernment between significance and non-significance in hypothesis testing, according to the Neyman-Pearson school there is the need for establishing a (maximum) critical level of probability acceptable for type I error, from which the differences must be assumed as non-significant, most commonly known as " α value". This must be properly exposed at the end of the description of the statistical procedures, because it is part of the methods set for the research paper.

Example: "... $\alpha = 0.05$."

The choice of the α value must be done during the experimental planning, considering the factors inherent to the environment and the experimental material and the natural variability of the response variables to be assessed at the assay. Although the α value refers nominally to control of type I error, it must be pointed out that the probability of occurrence of type I and II errors commonly manifest antagonistically. Therefore, more strict α values (e.g., 0.01) represent a great control of type I error, but may reduce the level of control of type II error. In this way, it is up to the researcher, after the proper experimental considerations, to define the priorities of control of the statistical errors in their conditions and to adopt the pertinent α level.

If an author chose to make assertions about significance or no significance based on the previous choice of α , the indication of significance must agree with that choice. For instance, let us take a study conducted with $\alpha = 0.05$. In this study, the analysis of variance showed a P-value of 0.019. When presenting this to the reader in the text, the author must utilize: "...a difference was observed ($P < 0.05$)."

For expressions in the text, use the letter P (capital letter), not in italic and without spaces. Example: "...intake increased ($P < 0.05$), but there was no change in weight gain ($P > 0.05$)." Additionally, for an RBZ's convention, the symbols \leq or \geq must not be used. Use only $<$ or $>$. Do not use the form " $P = 0.05$ ".

The basic theory of hypothesis testing shows us the fact that there are two, and only two, distinct regions under a distribution of probability when this is utilized in the test: acceptance region of H_0 and rejection region of H_0 (or region of no rejection of H_0 and region of no acceptance of H_0 , as some areas would rather use).

This leads us to the warning about two common mistakes involving the interpretation of significance: the use of the term "tendency" or "trend" and the qualification of significance (according to the Neyman-Pearson school).

To illustrate the first mistake, let us suppose that an author is conducting a research project in whose planning $\alpha = 0.05$. At the analyses, for one of the variables, a P-value of 0.061 was observed. Due to the proximity of this value to the α value, the researcher presents in their text: "...for the X variable there was tendency for difference..."

Considering the summarized idea of tests and hypotheses presented previously, this type of argument is invalid, since there is no region of "tendency for acceptance of H_0 " or "tendency for rejection of H_0 ". Thus, the value of the statistics calculated can only be included in the regions of "rejection" or "not rejection" of H_0 . In this sense, the proximity of the value to α does not matter; contrarily to which region the statistics' calculated value suits.

Otherwise, to illustrate the second mistake, let us take a research paper in whose planning $\alpha = 0.05$. In this case, two variables presented at ANOVA, P-values of 0.035 and 0.002. Some may state that the first result is taken as significant, and the second as "highly" significant, which characterizes qualification. Again, there is the warning: the proximity between the values of P and α does not matter. Hence, there are no "little", "very", "highly" or "poorly" significant results, but only significant or non-significant.

However, there is an increasing tendency among authors worldwide to commingle the Fisher school with the Neyman-Pearson school, i.e., to present significance level and compromise statistical precision with body of evidence in rejecting or not rejecting the null hypothesis. The Fisher school is based on body or strength of evidence, which means that the lower the P-value, the stronger the evidence. By body of evidence we mean that for some reason, such as some experimental conditions that could be controlled but were not, or some variable or variables that are known to interfere on treatment effects but were not dealt with for some particular reason (cost, rain, drought, etc.), a researcher is not forced to conclude in favor of the maintenance of the status quo simply because he (she) found $P = 0.058$. Therefore, we strongly suggest the presentation of the confidence intervals because they combine the magnitude of a treatment effect with the statistical precision and, as such, it circumvents the accept-reject dichotomy of the null hypothesis. Confidence intervals move us away from that dichotomy (Stang et al, 2010)¹.

¹ Stang, A.; Poole, C. and Kuss, O. 2010. The ongoing tyranny of statistical significance testing in biomedical research. *European Journal of Epidemiology* 25:225-230.

The probability that a continuous random variable equals any one value is ZERO. That's why confidence intervals are built, because instead of making inference about the true value of a parameter, we are now interested in inferring that the true value of the parameter lies within some interval, i.e., the confidence interval. For all practical applications this means that estimates have to be given as the estimate of the mean plus or minus a certain amount (Mood et al., 1974)². Therefore,

$$P\left[\bar{x} - t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n} < \mu < \bar{x} + t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n}\right] = 0.95$$

means that the probability that the random interval $\left(\bar{x} - t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n}, \bar{x} + t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n}\right)$ covers the unknown true mean μ equals 0.95. The length of the interval is $2t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n}$ and is dependent on sample size (n) and sample variance (s^2). The statistics $t_{1-\alpha/2}$ is some statistics that could be computed from data and on the prior establishment of the significance level (α). Therefore, if authors want to present confidence intervals, they must previously define them. As possible examples we list:

"... the means were presented as

$$\bar{x} \left(\bar{x} - t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n}, \bar{x} + t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n} \right);$$

"... and confidence intervals for the means presented as $\bar{x} \pm t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n}$."

There are statistical softwares that present confidence intervals as outputs, and in such cases, the length of the intervals presented can be calculated as the upper minus the lower limits of the confidence interval. Therefore, provided that the assumption about the distribution of errors holds true, for a given statistics computed from the data, $t_{1-\alpha/2} \sqrt{s^2/n} = (\text{upper} - \text{lower}) / 2$. For all cases reported above, $s^2 = \text{RMS}$, in which RMS is the residual mean square.

3.4.3. Suggestions of styles for the representation of P-values and dispersion indicators in Tables for the most common experimental designs and arrangements³

Balanced experiments with qualitative treatments, conducted without the adoption of experimental arrangements, and considering homogeneous variances among treatments

² Mood, A. M.; Graybill, F. A. and Boes, D. C. 1974. Introduction to the theory of statistics. McGraw-Hill Kogakusha, LTD., Tokyo.

³ All the examples herein described are hypothetical. None of them was taken from real experimental situations.

In these situations, this form of table is recommended:

Table 1 - Voluntary intake of animals fed a diet with different energetic sources

Item	Energetic source ¹			P-value	CV (%)
	Alpha	Beta	Gamma		
	kg d ⁻¹				
Dry matter	6.301a	5.302b	5.892ab	0.036	5.3
	g/kg of body weight				
Neutral detergent fiber	12.5a	10.4b	11.2b	0.045	4.8

¹ Means in the same row followed by different letters are different by the Tukey test (P<0.05).

In this example, the coefficient of variation (CV) is calculated as:

$$CV (\%) = \frac{\sqrt{RMS}}{\bar{Y}} \times 100$$

in which: RMS = residual mean square; and \bar{Y} = overall mean obtained from all the observations.

Although CV is widely adopted in Brazil, there is a trend for its replacement in the international journals by the standard error of the mean. This also shows as reality for the users of PROC MIXED of SAS, which does not compute CV values for ANOVA. If this is the option for the authors, the tables can be put together as:

Table 2 - Total digestibility coefficients (g g⁻¹) of animals fed diets containing different energetic sources

Item	Energetic source ¹			P-value	SEM
	Alpha	Beta	Gamma		
Dry matter	0.605b	0.612b	0.669a	0.0172	0.035

¹ Means in the same row followed by different letters are different by the Tukey test (P<0.05).

The standard error of the mean must be expressed with the same number of decimal places applied to the means, and can be represented in the table by the acronym "SEM" or by the notation $S_{\bar{Y}}$. For the specific case of this example, SEM is calculated as:

$$S_{\bar{Y}} = \frac{\sqrt{RMS}}{\sqrt{n}}$$

in which: RMS = residual mean square; and n = number of observations in each treatment.

It is important to emphasize that in case of supposition of homogeneous variances among treatments, only one indicator of variance must be presented; the indication of different standard errors to the different treatments is inconsistent with the presuppositions of the analyses.

Balanced experiments balanced with qualitative treatments, conducted without the adoption of experimental arrangements and considering heterogeneous variances among treatments

This type of experimental interpretation has become common with the evolution of the statistical software, especially with the utilization of PROC MIXED, from SAS. In this case, as different variances will be assumed among treatments, each treatment must be followed by its respective indicator of dispersion; in this case, the standard error may be used. Another possibility is to present the associated confidence intervals for treatment means.

Table 3 - Characteristics of the metabolism of nitrogen compounds in animals fed different protein sources

Item	Protein source ¹			P-value
	Omega	PI	Kapa	
Serum urea nitrogen (mg dL ⁻¹)	12.35±1.36b	17.18±1.75a	18.54±0.98a	0.023
--				

¹ Means in the same row followed by different letters are different by the Tukey-Kramer test (P<0.05).

We stress that the indicator of dispersion presented in Table 1 is inherent to the treatment's mean (thence the association by the symbol ±). In this case, the standard error is mandatory (standard deviation must not be used). The presentation of the confidence intervals may offer a rather comprehensive data description.

Balanced experiments with quantitative treatments, conducted without the adoption of experimental arrangements and considering homogeneous variances among treatments

The differences between quantitative treatments must not be interpreted by means of conventional tests of multiple comparisons (e.g., Tukey, LSD, Duncan, SNK, Dunnett). Utilize appropriate tests of multiple comparisons (e.g., The Williams test) or utilize regression models (linear or nonlinear).

A common and usually efficient form to interpret can be achieved by performing orthogonal decomposition of the sum of squares for treatments in contrasts associated with the different order effects (e.g., linear, quadratic, cubic, etc.). This decomposition can be done through the adjustment of equation of linear regression corresponding to the highest significant order effect⁴.

⁴ When fitting the linear regression models, use the notation "r²" (lowercase) for functions with a single independent variable (e.g., simple linear) and "R²" (capital letter) for the functions with more than one independent variable or for polynomial models (e.g., quadratic).

In the case of orthogonal decomposition, it must be emphasized that experiments carried out with "p" levels (in the case above, four levels of additive in the diet; p = 4) provide evaluation of "p-1" order effects (in the example, p - 1 = 3; linear, quadratic and cubic).

The adoption of the maxim "models of cubic or superior order do not make sense" must be careful, and in some cases, this can distort the presentation and interpretation of results.

Example:

Table 4 - Performance characteristics of animals fed diets containing different levels of additive

Item	Additive (g kg ⁻¹ of dry matter)				CV (%)	P-value ¹		
	0	3	6	9		L	Q	C
Intake (g) ²	125	135	147	152	3.8	0.015	0.225	0.567
--								

¹ L, Q and C - linear, quadratic and cubic effects, concerning the inclusion of additive in the diet.

² $\hat{y} = 125.8 + 3.10 \times X$ (r² = 0.976).

In some cases where high-degree effects are not significant, one can proceed to its grouping in the interpretation of the experiment as "lack of fit", which can reduce the number of columns in the tables.

Example:

Table 5 - Performance characteristics of animals fed diets containing different levels of additive

Item	Additive (g kg ⁻¹ of dry matter)					CV (%)	P-value ^{1,2}		
	0	3	6	9	12		L	Q	LF
Intake (g) ³	125	135	147	152	161	4.1	0.032	0.359	0.603
--									

¹ L and Q - effects of linear and quadratic order concerning the inclusion of additive in the diet.

² LF - lack of fit.

³ $\hat{y} = 126.2 + 2.966 \times X$ (r² = 0.985).

One example is shown in Figure 1, which simulates the interpretation of the concentration of rumen ammonia nitrogen as a function of the time after feeding. Observing the points equivalent to the average concentrations obtained in each period, it can be easily seen that the concentration of ammonia nitrogen rises up to the point of highest concentration more intensely than it declines after this point. So, at the interval evaluated, the elevation and reduction of the concentration of ammoniacal nitrogen are asymmetric in relation to the point of maximum concentration. The interpretation of this by a model of second degree (quadratic) implicitly assumes that elevation and reduction happen with the same intensity, i.e., symmetrically in relation to the point

of maximum concentration (which ends up distorting the location of the maximum point). In this case, as can be seen in Figure 1, the description is more coherent and logically done by function of the third degree (asymmetric in relation to the maximum point).

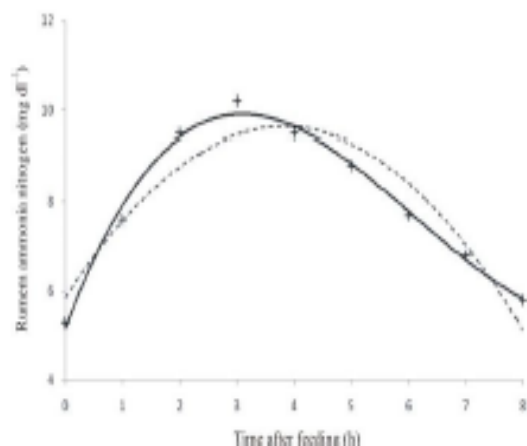


Figure 1 - Concentration of ruminal ammonia nitrogen as a function of the time after feeding (dashed line indicates quadratic function; continuous line indicates cubic function).

Balanced experiments with qualitative treatments, conducted with the adoption of experimental arrangements and considering homogeneous variances among treatments

The adoption of experimental arrangements (e.g., factorial, split plot) is common in experiments in the animal science area, and the information from their application must be adequately exposed to the reader.

As an example, in factorial arrangements the treatments are defined by the combination of the different levels (quantitative or qualitative) of the factors studied. They start to build the aim of studies in terms of their possible interaction or their direct (independent) effects, should they not interact with themselves, on the response variables. Hence, this piece of information (interaction and/or independent effects) must be presented coherently to the reader.

Example:

Table 6 - Voluntary intake in ruminants fed low-quality forage supplemented with nitrogen compounds and/or starch

Item	WN		N		SEM	P-value ¹		
	WS	S	WS	S		N	S	N × S
	g kg ⁻¹ of body weight							
NDFap	11.2	10.5	12.8	12.0	1.1	0.003	0.046	0.485
--								

WN - without nitrogen compounds; N - with nitrogen compounds; WS - without starch; S - with starch; NDFap - Neutral detergent fiber corrected for ash and protein.

¹ N, S and N × S - effects of supplementation with nitrogen compounds, supplementation with starch and their interaction, respectively.

3.5. Additional guidelines for style and units - Abbreviation

The use of defined abbreviations and acronyms by the authors, especially for treatments, should be avoided. When necessary, the abbreviation should be defined the first time it is used in the summary (abstract) and again in the body of the manuscript.

There is no need to define symbols for chemical elements or simple compounds. Units of weights and measures conform to international standards; therefore it is incorrect to create new abbreviations.

Abbreviations in the titles and tables should be avoided. Long terms or expressions that aesthetically do not fit as written in tables should be spelled out as footnote of the table or figure.

Example: "Average contents of dry matter (DM), crude protein (CP), acid detergent fiber (ADF), neutral detergent fiber (NDF), ether extract (EE), mineral matter (MM), organic matter (OM), total carbohydrates (TC), non-fiber carbohydrates (NFC), and total digestible nutrients (TDN) of the ingredients of the experimental diets."

Suggestion: "Chemical composition of the experimental diets"

Do not start a sentence with an abbreviation, acronym or symbol.

Wrong: "TC is a parameter that influences the final quality of the silage."

Suggestion: Total carbohydrate composition influences the final quality of the silage.

The use of abbreviations and acronyms in the summary should be limited. Too many abbreviations in the text makes it aesthetically cluttered and impairs the comprehension. The description by using abbreviations is appropriate for the author, but difficult to interpret for the reader, who will need to stop reading to consult the descriptions in the text.

Units of measure are not abbreviated when they follow a number in full at the beginning of a sentence.

Wrong: 2 L of water were added to the contents for analysis (-)

Suggestion: Two liters of water were added (-)

All abbreviations are written as singular, although they can be plural in the context (VFA instead of VFAs).

Abbreviations are generally not permitted in either the title or conclusions.

3.5.1. Abbreviations

AA = amino acid	EE = ether extract
AAI = essential amino acid(s)	EFA = essential fatty acid
ACTH = adrenocorticotrophic hormone	EIA = enzymeimmunoassay
ADDM = apparent digestibility of dry matter	ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay
ADF = acid detergent fiber	EPD = expected progeny difference
ADFI = average daily feed intake (differs from DMI)	ETA = estimated transmitting ability
ADG = average daily gain	FA = fatty acid
ADIN = acid detergent insoluble nitrogen	FCM = fat-corrected milk
ADL = acid detergent lignin	FFA = free fatty acids
ADP = adenosine diphosphate	FSH = follicle-stimulating hormone
AI = artificial insemination	GAPDH = glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
AIA = acid insoluble ash	GC-MS = gas chromatography-mass spectrometry
AMP = adenosine monophosphate	GE = gross energy
ANOVA = analysis of variance	GH = growth hormone
ATP = adenosine triphosphate	GHRH = growth hormone-releasing hormone
ATPase = adenosine triphosphatase	GLC = gas-liquid chromatography
avg = average (use only in tables)	GLM = general linear model
BCS = body condition score	GnRH = gonadotropin-releasing hormone
BHBA = β -hydroxybutyrate	h ² = heritability*
BLUE = best linear unbiased estimator	hCG = human chorionic gonadotropin
BLUP = best linear unbiased predictor	HCW = hot carcass weight
bp = base pair	HEPES = N-2-hydroxyethyl piperazine-N'-ethanesulfonic acid
BSA = bovine serum albumin	HPLC = high performance (pressure) liquid chromatography
bST = bovine somatotropin	HTST = high temperature, short time
BTA = <i>Bos taurus</i> autosome	i.d. = inside diameter
BUN = blood urea nitrogen	i.m. = intramuscular
BW = body weight	i.p. = intraperitoneal
CCW = cold carcass weight	i.v. = intravenous
cDNA = complementary deoxyribonucleic acid	IFN = interferon
CF = crude fiber	Ig = immunoglobulin
CI = confidence interval*	IGF = insulin-like growth factor
CLA = conjugated linoleic acid	IGFBP = insulin-like growth factor-binding protein
CN = casein	IL = interleukin
CoA = coenzyme A	IMI = intramammary infection
Co-EDTA = Cobalt ethylenediaminetetraacetate	IR = infrared reflectance
CP = crude protein	IVDMD = <i>in vitro</i> dry matter disappearance
cRNA = complementary ribonucleic acid	LA = lactalbumin
CV = coefficient of variation*	LD50 = lethal dose 50%
DCAD = dietary cation-anion difference	LG = lactoglobulin
DE = digestible energy	LH = luteinizing hormone
df = degrees of freedom*	LHRH = luteinizing hormone-releasing hormone
DFD(meat) = dark, firm, and dry	Lig = lignin
DIM = days in milk	LM = <i>longissimus(dorsi)</i> muscle
DM = dry matter	LPS = lipopolysaccharide
DMI = dry matter intake	LSD = least significant difference*
DNA = deoxyribonucleic acid	LSM = least squares means*
DNase = deoxyribonuclease	mAb = monoclonal antibody
EBV = estimated breeding value	ME = metabolizable energy
eCG = equine chorionic gonadotropin	ME _N = metabolizable energy corrected for nitrogen balance
ECM = energy-corrected milk	MIC = minimum inhibitory concentration
EDTA = ethylenediaminetetraacetic acid	ML = maximum likelihood
	MP = adenosine monophosphate

MP = metabolizable protein	SCC = somatic cell count
mRNA = messenger ribonucleic acid	SCM = solids-corrected milk
MS = mean square*	SD = standard deviation*
mtDNA = mitochondrial deoxyribonucleic acid	SDS = sodium dodecyl sulfate
MUFA = monounsaturated fatty acids	SE = standard error*
MUN = milk urea nitrogen	SEM = standard error of the mean*
n = number of samples*	SFA = saturated fatty acids
NAD = nicotinamide adenine dinucleotide	SNF = solids-not-fat
NADH = reduced form of NAD	SNP = single nucleotide polymorphism
NADP = nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	sp., spp. = one species, several species
NADPH ₂ = reduced form of NADP	SPC = standard plate count
NAGase = N-acetyl-β-D-glucosaminidase	SS = sums of squares*
NAN = nonammonia nitrogen	SSC = sus scrofa chromosome
NDF = neutral detergent fiber	SSPE = saline-sodium phosphate-edta buffer
NE = net energy	ST = somatotropin
NEFA = nonesterified fatty acids	TCA = trichloroacetic acid
NEg = net energy for gain	TDN = total digestible nutrients
NEl = net energy for lactation	TLC = thin layer chromatography
NEm = net energy for maintenance	TMR = total mixed ration
NEm+p = net energy for maintenance and production	Tris = tris(hydroxymethyl)aminomethane
NEp = net energy for production	TSAA = total sulfur amino acids
NFC = nonfiber carbohydrates	UF = ultrafiltration, ultrafiltered
NPN = nonprotein nitrogen	UHT = ultra-high temperature
NRC = National Research Council	UV = ultraviolet
NS = nonsignificant*	VFA = volatile fatty acids
NSC = nonstructural carbohydrates	wt = weight (use only in tables)
o.d. = outside diameter	
OM = organic matter	
PAGE = polyacrylamide gel electrophoresis	Physical units and other units
PBS = phosphate-buffered saline	× = crossed with, times
PCR = polymerase chain reaction	°C = celsius (with number)
pfu = plaque-forming unity	μ (prefix) = micro
PG = prostaglandin	μCi = microcurie
PGF _{2α} = prostaglandin F _{2α}	μE = micro-einstein
PMNL = polymorphonuclear neutrophilic leukocyte	μF = microfarads
PMSG = pregnant mare's serum gonadotropin	μg = microgram
PSE = pale, soft, and exudative (meat)	μg kg ⁻¹ = parts per billion
PTA = predicted transmitting ability	μL = microliter
PUFA = polyunsaturated fatty acids	amu = atomic mass unit
QTL = quantitative trait loci	atm = atmosphere
r = correlation coefficient*	bp = base pair
R ² = coefficient of determination*	ca. = circa
RDP = rumen-degradable protein	cal = calorie
REML = restricted maximum likelihood	cc, cm ³ = cubic centimeter
RFLP = restriction fragment length polymorphism	cfu = colony-forming unit
RIA = radioimmunoassay	Ci = curie
RNA = ribonucleic acid	cm = centimeter
RNase = ribonuclease	cM = centimorgan
rRNA = ribosomal ribonucleic acid	cm ² = centimeter, square
RUP = rumen-undegradable protein	cP = centipoise
s.c. = subcutaneous	cpm = counts per minute
	cps = counts per second
	CPU = central processing unit
	cu = cubic

* Use generally restricted to tables and parenthetical expressions.

D = density
 d = day(s)
 Da = dalton
 dL = deciliter
 Eq = equivalents
 g = gram
 g = gravity
 h = hour(s)
 ha = hectare
 Hz = cycles per second (hertz)
 IU = international unit
 J = joule
 K = Kelvin
 k (prefix) = kilo
 kb = kilobase
 Kbp = kilobase pair
 KB = kilobyte
 kcal = kilocalorie
 keV = kiloelectron volts
 kg = kilogram
 kPa = kilopascal
 KU = Klett units
 L = liter
 ln = logarithm (natural)
 log₁₀ = logarithm (base 10)
 lx = lux
 M (prefix) = mega
 m (prefix) = milli
 m = meter
 M = molar (concentration)
 mg kg⁻¹ = parts per million
 min = minute(s)
 mL = milliliter
 mM = millimolar (concentration)
 mm Hg = millimeters of mercury
 mm³ = cubic millimeter
 mmol = millimole (mass)
 mo = month(s)
 mol = mole (number, mass)
 n (prefix) = nano
 N = Newton
 N = normal (concentration)
 ng = nanogram
 p (prefix) = pico
 P = probability
 Pa = Pascal
 pfu = plaque-forming unit
 pg = picogram
 rpm = revolutions per minute
 RU = rennet activity unit
 s = second(s)
 U = unit

use lx = foot-candle
 use mmol kg⁻¹ = osmolality
 V = volt
 vol = volume
 vol vol⁻¹ (use parenthetically) = volume/volume
 W = Watt
 wk = week(s)
 wt vol⁻¹ (use parenthetically) = weight/volume
 yr = year(s)
 Time: The 24h clock should be used, e.g.: 14.00 hours;
 14.30 hours

4. Guidelines to submit the manuscript

4.1. The Manuscript Central™ online system

The journal editorial office of *Revista Brasileira de Zootecnia* is now using an online system, The Manuscript Central™, to manage the submission and peer review the manuscripts. Manuscript Central™ is a product of the ScholarOne® platform of Thomson Reuters (<http://scholarone.com/>).

Manuscripts are submitted online by accessing either the Journal page (<http://www.revista.sbz.org.br>) or by using the portal of the Scientific Electronic Library, SciELO at <http://www.scielo.br/rbz>. By doing so, author will find a logo of Manuscript Central™, <http://mc04.manuscriptcentral.com/rbz-scielo>.

User can access the author quick start guide by clicking the link in the top right corner of the page named Get Help Now.

Those who are not registered must proceed by Creating an Account. RBZ allows their users to create their own accounts. You will see a Create Account link in the top right corner of the page. Follow the step-by-step instructions for creating your account. To keep your account information current, use the Edit Account link in the upper right corner (Create Account changes to Edit Account after your account is created). You can also change your User ID and password here.

Please retain your new password information. Manuscript Central will not send your password via email. After completing the registration process, the user will be notified by e-mail and immediately will have the access to the author center and then submit a manuscript, if is the case.

4.1.1. Authorship

The name and institutions of authors will be asked to be filled in the step 3 of the submission process, named Authors & Institutions; therefore it should not be presented in the body of the manuscript. The corresponding author should provide co-authors' information. Manuscript Central™ will help the corresponding author to check whether an author already exists in the journal's database, just by entering the author's e-mail address and clicking "Find." If the author is found, their information will be automatically filled out.

4.2. The cover letter

It is expected that the corresponding author writes a letter that explains the reasons why the editor would want to publish your manuscript.

See an example of what should go in this letter:

- Inform the title of the manuscript and the last name of the author;
- Primarily it is important to emblazon the relevance of the subject studied in a concise manner.
- If there is any novelty on your work, please report this to the editor. It is also important to stress the originality of the research, if it is the case.
- What is the main finding of the study?

- Additional results but less relevant shall be mentioned then.

- What is the implication of the findings of the study?

- Inform the editor if there is any patent related to your study.

- If any part of this study has already been published, tell the editor that this is the case of preliminary result, or only partial. Also inform the location, the event and the date of such publication. Otherwise, state that this is an original study that has not been published either in part or as a whole.

In the step 5 (Details & Comments) the corresponding author will be asked to upload a file containing the **Cover letter**.

In that step 6 (File Upload) of the submission process the corresponding author will upload files.

Files that ought to be sent besides the Main body: Figures, Tables, and Acknowledgments should be sent as separated file and not as part of the body of the manuscript.

The corresponding author is responsible for obtaining the signatures of all coauthors and send the Assurance of contents and assignment of copyright. Manuscript will not be considered for peer reviewing without this form. The deadline will be set allowing a period of 15 days for delivery of forms after which the editorial office act by withdrawing.