

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ – CAMPUS UMUARAMA
PROGRAMA DE MESTRADO EM PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E SAÚDE
ANIMAL



Hulle Lívia Costa Brito

PROTOCOLO DE ADAPTAÇÃO ÀS DIETAS CONTENDO GRÃO INTEIRO DE
MILHO PARA BOVINOS CONFINADOS

UMUARAMA
NOVEMBRO
2018

HULLE LÍVIA COSTA BRITO

Protocolo de adaptação às dietas contendo grão inteiro de milho para bovinos confinados

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal do Departamento de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Veterinária.

Área de concentração: Produção Sustentável

Orientador: Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes

Coorientador: Prof. Dr. Antonio Campanha Martinez

Umuarama

2018

FOLHA DE APROVAÇÃO

HULLE LIVIA COSTA BRITO

Protocolo de adaptação às dietas contendo grão inteiro de milho para bovinos confinados

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Veterinária pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes
Universidade Federal da Grande Dourados (Presidente)

Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco
Universidade Estadual de Maringá (Membro)

Prof. Dr. Jefferson Rodrigues Gandra
Universidade Federal da Grande Dourados (Membro)

Aprovada em: 12 de novembro de 2018.

Local da defesa: Sala de Aulas do Mestrado, Campus Regional de Umuarama-UEM.

DEDICATÓRIA

Dedico essa conquista aos meus pais Moacir Costa Brito e Otília Maria de Paula, e irmã Olívia Diulen Costa Brito. Também a minha família de coração Luciana da Rosa, a Maria Clara, Osmar Pereira e Maysa Eduarda da Rosa. As minhas amigas Raquel Tenório e Giovana Carmanhães. E aos meus professores e amigos Aguinaldo Yoshio Nakamura, Adriana Aparecida Pinto e Thais Lorana Savoldi.

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus, a meus pais Otília e Moacir, a minha família e amigos que me apoiaram até aqui!

Agradeço ao meu orientador Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes, e coorientadores Antonio Campanha Martinez, e Jefferson Rodrigues Gandra.

Agradeço a meus professores, amigos e aos demais membros da Universidade Estadual de Maringá (UEM) e Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) pela contribuição para execução deste projeto. Principalmente a professora Beatriz Cervejeira Bolonho do Centro de Tecnologia - UEM

Agradecimento a AGROCRIA nutrição animal.

Capes. Fundect-MS e CNPq por financiaram parte deste trabalho.

Expresso aqui meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

O presente trabalho objetivou avaliar a adaptação de novilhos para dietas de confinamento com uso de grão de milho inteiro. Utilizou-se 5 novilhos canulados distribuídos ao acaso, recebendo dietas com volumoso e concentrado, nas respectivas proporções (%) de 50:50, 40:60, 20:80 e 0:100, e cada dieta corresponde a uma semana experimental. Avaliou-se padrões de fermentação ruminal, consumo e digestibilidade de nutrientes, balanço de nitrogênio e síntese de proteína microbiana em novilhos alimentados com dietas contendo grãos de milho inteiro. Não ocorreram diferenças para consumo e digestibilidade de MS, porém houve aumento no consumo de PB entre os períodos de tratamento ($P < 0,05$) e redução para o consumo de FDN ($P < 0,05$). A excreção de purinas totais da 1ª para 4ª semana variaram de 11,66 para 10,21 mmol/L, o nitrogênio amoniacal valores de 7,87 a 48,54 mg/dL e valores de 6,34 a 6,82 para variação de pH. Conclui-se que a adaptação não se faz necessária.

Palavras-chave: consumo, fermentação ruminal, dietas grãos inteiro, milho grão inteiro, derivados de purinas, síntese de proteína microbiana.

ABSTRACT

The present work aimed to evaluate the adaptation of steers for feedlot diets using whole corn grain. Five randomized cannulated steers were fed randomized and concentrated diets in the respective proportions (%) of 50:50, 40:60, 20:80 and 0: 100, and each diet corresponded to one experimental week. It was evaluated ruminal fermentation, nutrient intake and digestibility, nitrogen balance and microbial protein synthesis in steers fed diets containing whole grains. There were no differences in intake and digestibility of DM, but there was an increase in CP intake between treatment periods ($P < 0.05$) and reduction in NDF intake ($P < 0.05$). The excretion of total purines from 1st to 4th week ranged from 11.66 to 10.21 mmol / L, ammoniacal nitrogen values from 7.87 to 48.54 mg / dL and values from 6.34 to 6.82 for variation of pH. We conclude that adaptation is not necessary.

Key words: consumption, ruminal fermentation, whole grain diets, whole grain corn, purine derivatives, microbial protein synthesis

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição química – bromatológica dos ingredientes, utilizados na dieta experimental para novilhos em diferentes dietas de adaptação.....	14
Tabela 2.	Proporção (%) dos ingredientes utilizados na dieta para novilhos em diferentes dietas de adaptação de acordo com a semana experimental.....	15
Tabela 3.	Porcentagem da composição química – bromatológica dos ingredientes com base na matéria seca, utilizados na dieta experimental de cada semana para novilhos em adaptação.....	15
Tabela 4.	Consumo e digestibilidade de nutrientes, pH fecal e recuperação de grãos nas fezes de novilhos consumindo diferentes dietas de adaptação.....	18
Tabela 5.	Balço dos compostos nitrogenados em novilhos consumindo diferentes dietas de adaptação.....	19
Tabela 6.	Valores médios de derivados de purina e síntese de proteína microbiana dos novilhos em diferentes dietas de adaptação.....	20
Tabela 7.	Clearence de ureia/creatinina em novilhos consumindo diferentes dietas de adaptação.....	20

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Valores médios de Nitrogênio Amomical Ruminal em novilhos consumindo diferentes dietas de adaptação..... **21**
- Figura 2.** Valores médios de pH do líquido ruminal em novilhos consumindo diferentes dietas de adaptação..... **22**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACGC – ácidos graxos de cadeia curta

AGV – ácido graxo volátil

AOAC – Association of Official Analytical Chemists (Associação oficial de químicos analíticos)

DP – derivado de purina

FDA – fibra em detergente ácido

FDN – fibra em detergente neutro

FDNi – fibra em detergente neutro indigestível

HCl – ácido clorídrico

LIG – lignina

MS – matéria seca

N – nitrogênio

N-NH₃ – nitrogênio amoniacal

NNP – nitrogênio não proteico

PB – proteína bruta

PC – peso corporal

TNT – tecido não tecido

VU – volume urinário

SUMÁRIO

1.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
	 Dieta alto grão com milho para bovinos.....	12
1.2	OBJETIVO GERAL.....	13
1.3	OBJETIVO ESPECÍFICO.....	13
1.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	13
1.5	RESULTADOS.....	18
1.6	DISCUSSÃO.....	22
1.7	CONCLUSÃO.....	25
1.8	REFERÊNCIAS.....	26
2	ARTIGO.....	30
3	ANEXOS.....	53

1.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Dieta alto grão com milho para bovinos

O milho tem como principal componente o amido, um polissacarídeo formado por amilose e amilopectina. A amilose é constituída por uma cadeia de unidades de glicose linear, já amilopectina por uma ramificada (ANTUNES; RODRIGUEZ; SALIBA, 2011). A amilopectina por ser ramificada permite mais facilidade para o ataque microbiano ruminal, comparada a amilose.

No rúmen para que ocorra a degradação do amido, há a hidrólise por amilases bacterianas do tipo α e β e também por α -glicosidasas. Os carboidratos residuais que não são degradados no rúmen, passam para o intestino delgado e sofrem ação de enzimas pancreáticas ou ainda podem chegar ao intestino grosso e sofrer fermentação da mesma maneira que no rúmen (KOZLOSKI, 2016).

Dietas contendo alta quantidade de amido aumenta a produção de ácidos graxos voláteis (AGV) e diminui o pH ruminal (OWENS et al., 1998). A fermentação de carboidratos solúveis que leva a queda do pH ruminal é devido a maior produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), principalmente o propionato pela via do ácido láctico, que pode se acumular no rúmen, reduzindo a digestão da fibra (VAN SOEST, 1994). A produção de propionato decorrente da degradação do amido, reduz a produção de acetato e butirato estando associado ao alto teor de carboidratos de rápida fermentação está associada à morte das bactérias fibrolíticas e dos protozoários, ocasionada pela redução do pH ruminal (OLIVEIRA; SANTANA NETO; VALENÇA, 2013).

Em dietas ricas em grãos há pequena percentagem de inclusão de fibra, tendo como papel de prevenir desordens nutricionais, tais como acidose, e a maximizar o consumo de energia líquida (GALYEAN e HUBBERT, 2014).

Devido ao risco de desordens nutricionais em dietas com elevada proporção de amido, a adaptação é considerada um período crítico de tempo, portanto recomenda-se que uma adaptação não seja inferior a 14 dias (BROWN; PONCE; PULIKANTI, 2006). Turgeon et al. (2010), estabeleceram um protocolo de fornecimento de milho para adaptação à dieta com grão inteiro, descrito a seguir: 1° ao 5° dia: oferecer 1,3 a 1,5% do peso vivo, 6° ao 10° dia: oferecer 1,5 a 1,7% do peso vivo, 10° ao 14° dia: oferecer 1,8 a 2,0% do peso vivo. Após o 15° dia:

aumentar gradativamente matéria seca a cada três dias conforme aceitação dos animais até 2,3% de peso vivo.

Para o balanceamento em uma dieta alto grão, a relação utilizada geralmente será de 85% de milho grão inteiro e 15% de pellet proteico-mineral-vitamínico, assim há uma dieta altamente energética (MANDARINO et al., 2013).

1.2 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a adaptação de bovinos alimentados com dietas contendo grãos de milho inteiros.

1.3 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Avaliar os padrões de fermentação ruminal, em bovinos recebendo dieta de milho grão inteiro;

- Avaliar consumo e digestibilidade aparente de nutrientes em bovinos recebendo dieta de milho grão inteiro;

- Avaliar o balanço de nitrogênio e a síntese de proteína microbiana, em bovinos recebendo dieta de milho grão inteiro.

1.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido, no setor de nutrição de ruminantes e no Laboratório de Nutrição Animal nas dependências do setor de Zootecnia na Universidade Federal da Grande Dourados, Estado do Mato Grosso do Sul, com latitude de 22° 14`S, longitude de 54° 49`W e altitude de 450 m, entre os meses de janeiro a fevereiro de 2018.

Esse experimento foi conduzido de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFGD) da Universidade Federal da Grande Dourados, em reunião de 11 de dezembro de 2015, sobre protocolo nº 23/2015.

Foram utilizados cinco bovinos mestiços providos de cânulas no rúmen, com peso médio de 350 kg, mantidos em baias individuais de 8 m² (2x4), cobertas e de piso de concreto, providas de bebedouro e comedouro.

Ao final de cada período experimental, os animais foram pesados no 7º dia e a dieta ajustada para cada animal de acordo com o peso obtido. Os animais eram alimentados três vezes ao dia, recebiam em média 2,3% de matéria seca (MS) de dieta por kg de peso corporal (PC). Cada animal tinha sua dieta pesada e fornecida individualmente, na manhã seguinte eram recolhidas as sobras e pesadas, assim determinávamos o consumo por meio da diferença do total de dieta fornecida menos a sobra. E essa sobra se utilizava para ajuste da dieta de cada dia experimental. Não foi realizado análise química-bromatológica da sobra, mas quanto ao ingrediente era observado maior sobra de feno.

A dieta de adaptação foi composta de feno de aveia, milho grão inteiro e núcleo proteico-mineral-vitamínico peletizado, a composição dos alimentos esta descrito abaixo na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química – bromatológica dos ingredientes com base na matéria seca, utilizados na dieta experimental para novilhos em diferentes dietas de adaptação.

%	Milho grão	Feno de aveia	Pellet*
Matéria seca	85	90	82
Proteína bruta	9	14	38
Cinzas	4	8	20
Fibra em detergente neutro	15	68	75
Fibra em detergente ácido	3	35	28

O experimento dividiu-se em quatro semanas, cada semana forneceu-se uma dieta diferente. Os animais foram arraçoados até o 3º período 3 vezes ao dia, devido a capacidade do cocho, quando retirou volumoso a partir do quarto período, passou para 2 tratos diários. Para a dieta o volumoso utilizado foi o feno de aveia e o concentrado composto de 85% de milho grão inteiro e 15% de pellet proteico-mineral-vitamínico, conforme descrito na Tabela 2, e na Tabela 3 a porcentagem da composição química – bromatológica dos ingredientes com base na matéria seca.

*Agrocria Engordin Grão Inteiro 38

Níveis de garantia do fabricante (a cada kg):

Umidade (máx.).....0 g

Fósforo (mín.).....6,000 mg

Cálcio (máx.).....42 g

Cálcio (mín.).....34 g

Extrato etéreo (mín.)....10 g

Matéria Fibrosa (máx.)..210 g

Matéria Mineral (máx.)..200 g

Proteína Bruta (mín.).....380g

FDA (máx.).....250 g

Sódio (mín.).....9,700 mg

N.N.P. Equiv. em Proteína (máx.)...173 g

Virginamicina (mín.).....150 g

Monensina (mín.).....150 g

Tabela 2. Proporção (%) dos ingredientes utilizados na dieta para novilhos em diferentes dietas de adaptação de acordo com a semana experimental.

Semana	Feno de aveia	Milho	Pellet
Primeira	50	42,5	7,5
Segunda	40	51	9
Terceira	20	68	12
Quarta	0	85	15

Tabela 3. Porcentagem da composição química – bromatológica dos ingredientes com base na matéria seca, utilizados na dieta experimental de cada semana para novilhos em adaptação.

%	1ª Semana	2ª Semana	3ª Semana	4ª Semana
Matéria seca	87,28	86,73	85,64	84,55
Proteína bruta	13,68	13,61	13,48	13,35
Cinzas	7,20	7,04	6,72	6,40
Fibra em detergente neutro	46,00	41,60	32,80	24,00
Fibra em detergente ácido	20,88	18,05	12,40	6,75

Coletou-se do 3º ao 5º dia duas amostras de fezes de cada novilho imediatamente após a defecação, sendo essas coletas realizadas uma vez pela manhã e outra pela tarde. Uma amostra usou-se para a determinação do pH fecal, por meio do peagâmetro digital portátil e outra amostra para percentagem de recuperação dos grãos nas fezes. As determinações do pH foram realizadas imediatamente após a coleta por intermédio de peagâmetro digital portátil; a recuperação foi realizada após lavagem com água corrente em peneira de 2 mm de aproximadamente 200g de fezes. Posteriormente as amostras foram acondicionadas em bandejas de alumínio, devidamente identificadas e levadas em estufa de ventilação forçada (55 °C); moídas em moinho de facas em peneira de 3mm e ao final de cada período foi realizada uma amostra composta por animal.

A recuperação dos grãos nas fezes determinou-se pela divisão do peso após a lavagem, pelo peso inicial da amostra e multiplicado por cem, para obtermos o resultado em percentagem.

As amostras de concentrado e volumoso da dieta e fezes foram analisadas para a determinação dos teores de matéria seca (MS: método 930.15), proteína bruta (PB: Nx6,25; método 984.13) e matéria mineral (MM: método 942.05) conforme metodologias da AOAC

(1991). Os teores de fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados conforme descrito por Van Soest; Robertson; Lewis (1991); os teores de lignina (LIG) foram obtidos pela oxidação com permanganato de potássio (VAN SOEST E WINE, 1968). Para as análises de fibra em detergente neutro (FDN), as amostras foram tratadas com alfa amilase estáveis ao calor sem a adição de sulfito de sódio e corrigidas para cinzas (MERTENS, 2002). Os teores de amido digestíveis das dietas foram determinados conforme o método adaptado da AOAC 996.11 (WALTER; SILVA; PERDOMO, 2005).

O indicador interno utilizado nesse experimento foi a fibra em detergente neutro indigestível (FDNi). Utilizou-se 1 novilho para incubar as amostras acondicionados em sacos confeccionados de tecido não tecido (TNT) por 288 horas, as amostras foram incubadas no rúmen em duplicatas de cada ingrediente da dieta e da composta de fezes de cada novilho (CASALI et al., 2009). Após o período de incubação, os sacos foram retirados, lavados com água corrente até o total clareamento desta, e submetidos à extração com detergente neutro (MERTENS, 2002).

No 6º dia experimental foram coletadas manualmente amostras de conteúdo ruminal 0, 2, 4, 6, e 8 horas, após o com recebimento da dieta, a coleta foi realizada no ambiente ruminal entre as camadas líquida e sólida, e o conteúdo imediatamente filtrado por uma camada tripla de gaze. Depois de filtrado utilizou-se para as determinações do pH, que foram realizadas imediatamente após a coleta por intermédio de peagâmetro digital portátil. E para a determinação do nitrogênio amoniacal (N-NH₃), separou-se uma alíquota de 40 mL, que foi fixada com 1 ml de HCl 1:1, sendo acondicionada em recipiente de vidro com tampa de polietileno, identificada para posterior análise. A determinação dos teores de N-NH₃ foi realizada conforme o método INCT-CA N007/1, descrito por Detmann et al. (2012).

No 6º dia de cada período experimental as, a partir de quatro horas após o fornecimento do primeiro trato do dia, foram realizadas coletas de sangue, por punção da veia cava caudal com o uso de tubos Vacutainer® e as amostras de sangue foram imediatamente centrifugadas a $2.700 \times g$ por 15 minutos e alíquotas de soro foram congeladas (-20°C) para posterior determinação da ureia e creatinina plasmática por colorimetria através do uso de kits comerciais Doles®.

No mesmo horário de coleta de sangue, realizou-se também a coleta de urina, utilizou-se uma vasilha de 0,5 L amarrada na extremidade de um cabo de madeira de 1 metro, a coleta foi na forma “spot” e micção espontânea dos novilhos, sendo armazenadas duas alíquotas. A

primeira de 10 mL foi diluída em 40 mL de ácido sulfúrico (0,036 N), para determinação da concentração de creatinina, ureia, ácido úrico e alantoína, segundo padronização de Valadares et al. (1999). A segunda alíquota de 50 ml foi conservada em 1 mL de ácido sulfúrico (36N) e utilizada para à determinação da concentração de N total urinário. As amostras foram imediatamente congeladas a -20°C para análise posterior. As análises de alantoína foram realizadas pelo método colorimétrico, conforme técnica de Fujihara et al. (1987), descrita por Chen e Gomes (1992). Para determinação da concentração de creatinina e ácido úrico foram utilizados kits comerciais Doles®.

A excreção total de derivados de purina (DP) foi calculada pela soma das quantidades de alantoína e ácido úrico excretado na urina, expressas em mmol/dia. As purinas microbianas absorvidas (Pabs, mmol/dia) calculadas a partir da excreção de derivados de purinas na urina (DP, mmol/dia), por meio da equação: $DP = 0,85 \cdot Pabs + 0,385 \cdot PC^{0,75}$, em que 0,85 é a recuperação de purinas absorvidas como derivados urinários de purinas e $0,385 PC^{0,75}$, a contribuição endógena para a excreção de purinas (VERBIC et al., 1990).

Já o volume total urinário foi determinado por intermédio da relação entre concentração de creatinina na urina e sua excreção por unidade de peso corporal, adotando-se como padrão o valor para creatinina de 27,36 mg/kg, e para calcular o volume de 24 horas adota-se a equação de 27,36 mg/kg - PC: $VU (l/dia) = (27,36 \times PC) / [creatinina]$, obtido por Rennó (2003) em novilhos cruzados e zebuínos, PC é o peso corporal do animal e [creatinina] é a concentração de creatinina, em mg/L, encontrada na amostra de urina spot dos animais.

As excreções diárias de N-ureia e N-creatinina foram obtidas por meio do produto das concentrações de ureia e creatinina pelo volume urinário de 24 horas, multiplicado por 0,466 ou 0,3715, correspondente aos teores de N na ureia e creatinina, respectivamente. A partir da excreção média diária de creatinina, obtida no experimento em mg/kg PC/dia, e da concentração de creatinina (mg/L) na amostra spot de urina.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo comando PROC MIXED do programa Statistical Analysis System versão 9.2 (SAS, 2009). Utilizou-se delineamento inteiramente ao acaso, seguindo o modelo abaixo:

$$Y_{ijl} = \mu + D_i + e_{ijl}$$

em que μ = média geral, D_i = efeito fixo de dieta e e_{ij} = erro.

Os dados de fermentação ruminal foram submetidos ao comando REPEATED do PROC MIXED para avaliação de medidas repetidas no tempo, seguindo o modelo abaixo:

$$Y_{ij} = \mu + D_i + t_j + D_i(t_j) + e_{ij}$$

em que: μ = média geral, D_i = efeito fixo de dieta, t_j = efeito fixo de tempo de colheita (0, 2 4, 6, 8 10 12 hs), $D_i(t_j)$ = interação e e_{ij} = erro.

Para avaliar as diferenças entre os tratamentos, os dados foram submetidos ao teste de Tukey. Os resultados são apresentados como LSMEANS e a significância declarada $P \leq 0,05$.

1.5 RESULTADOS

As dietas avaliadas não apresentaram efeito sobre o consumo de MS, já para PB apresentaram efeito ($P < 0,05$) onde na primeira semana o consumo foi 22,38% inferior que a última semana; 1,04 kg/dia x 1,34 kg/dia (Tabela 4). No entanto não apresentaram efeito para digestibilidade da MS ($P = 0,400$) e PB ($P = 0,096$). Para o consumo e a digestibilidade de FDN apresentaram redução ($P < 0,0001$ e $P = 0,003$ respectivamente). Quanto ao amido as dietas não apresentaram efeito sobre consumo ($P > 0,05$) entre as semanas, mas a digestibilidade foi reduzida ($P < 0,05$), principalmente na semana com a maior excreção de milho nas fezes ($P < 0,05$), e para o pH das fezes não apresentaram diferença ($P > 0,05$).

Tabela 4. Consumo e digestibilidade de nutrientes, pH fecal e recuperação de grãos nas fezes de novilhos consumindo diferentes dietas de adaptação.

Item	Semanas de adaptação				EPM	P-valor SEM
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a		
	Consumo (g/dia)					
Matéria seca	7430	7570	8140	7420	0,47	0,400
Proteína bruta	1040 ^c	1070 ^{bc}	1120 ^b	1340 ^a	0,07	0,006
FDN	4450 ^a	3370 ^a	2970 ^b	1260 ^c	0,33	<,0001
Amido	6320	6430	6930	6390	0,41	0,449
	Digestibilidade (g/kg)					
Matéria seca	782	779	773	738	2,69	0,469
Proteína bruta	809	822	722	749	1,05	0,096
FDN	668 ^a	658 ^a	552 ^b	281 ^c	2,73	0,003
Amido	905 ^a	886 ^a	848 ^{ab}	771 ^c	1,56	0,003
pH fezes	6,32	6,43	6,33	6,40	0,07	0,920
	Excreção de grão de milho inteiro (g/kg)					
Fezes	112,44 ^a	136,79 ^a	232,83 ^b	382,78 ^c	12,67	0,030

EPM= Erro Padrão da Média. SEM= Semana. *Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na Tabela 5 (4ª semana) a dieta teve efeito sobre consumo de nitrogênio ($P = 0,006$), mas também há aumento nos compostos nitrogenados excretados fezes ($P = 0,007$) e urina ($P = 0,006$), assim quando observado o balanço dos compostos nitrogenados não se tem diferença ($P > 0,05$) da primeira para a quarta semana.

A excreção de nitrogênio aumenta à medida que a proporção de milho grão inteiro e de pellet proteico-mineral-vitamínico aumenta na dieta, mesmo comportamento é apresentado para o consumo de N (Tabela 5), porém os N retidos e absorvidos não apresentaram efeito ($P = 0,612$ e $P = 0,632$).

Tabela 5. Balanço dos compostos nitrogenados em novilhos consumindo diferentes dietas de adaptação.

Item	Semanas de adaptação				EPM	P-valor SEM
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a		
	Consumo (g/dia)					
Nitrogênio	166,86 ^b	171,45 ^b	180,41 ^b	215,80 ^a	1,47	0,006
	Excreção (g/dia)					
Fezes	33,62 ^b	33,19 ^b	35,62 ^b	63,51 ^a	1,69	0,007
Urina	13,80 ^c	20,74 ^{bc}	25,94 ^b	33,59 ^a	1,05	0,006
	Balanço (g/dia)					
Retido	133,24	138,26	144,79	152,29	2,07	0,612
Absorvido	119,44	117,52	118,85	118,7	2,24	0,632

EPM= Erro Padrão da Média. SEM= Semana. *Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As dietas apresentaram efeito para as excreções dos derivados de purina (Tabela 6). O ácido úrico não apresentou diferença estatística ($P > 0,05$), já para alantoína ocorreu redução para quarta semana ($P < 0,05$). O mesmo comportamento foi apresentado para a síntese de N e de proteína microbiana.

Os níveis de clearance de ureia ($P = 0,006$) aumentaram a partir do momento que a dieta tem inclusão de feno abaixo de 50% (Tabela 7) e há aumento em inclusão de pellet proteico-mineral-vitamínico na dieta, e esse aumento nos valores de clearance esta relacionado à composição da dieta, principalmente com aumento de consumo de N ($P = 0,006$) como demonstra na Tabela 5.

Tabela 6. Valores médios de derivados de purina e síntese de proteína microbiana dos novilhos em diferentes dietas de adaptação.

Item	Semanas de adaptação				EPM	P-valor SEM
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a		
	mmol/L					
Alantoina	11,33 ^a	11,39 ^{ab}	10,79 ^{ab}	9,87 ^b	0,24	0,030
Ácido úrico	0,33	0,32	0,31	0,33	0,01	0,223
Purina totais	11,66 ^a	11,72 ^a	11,11 ^a	10,21 ^b	0,24	0,031
	mmol/dia					
Alantoina	91,50 ^a	91,35 ^{ab}	82,31 ^{bc}	73,75 ^c	2,69	0,001
Ácido úrico	2,69	2,59	2,42	2,50	0,05	0,612
Purina totais	94,19 ^a	93,94 ^{ab}	84,73 ^{bc}	76,25 ^c	2,73	0,001
Purinas abs	96,07 ^a	95,69 ^{ab}	84,30 ^{bc}	74,93 ^c	2,73	0,001
	g/kg de modr					
Nitrogênio	69,84 ^a	69,57 ^a	61,29 ^{ab}	54,48 ^b	2,73	0,001
Proteína bruta	436,56 ^a	434,84 ^a	383,09 ^{ab}	340,53 ^b	17,11	0,001

Modr = Matéria orgânica degradada no rúmen. EPM= Erro Padrão da Média. SEM= Semana.

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 7. Clearance de ureia/creatinina em novilhos consumindo diferentes dietas de adaptação.

Item	Semanas de adaptação				EPM	Valore de P SEM
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a		
	<i>Urina (mg/dL)</i>					
Ureia	59,94	65,12	67,12	63,47	1,40	0,351
Creatinina	3,54 ^a	3,55 ^a	3,72 ^{ab}	3,84 ^b	0,04	0,022
N-Ureico	27,93	30,34	31,27	29,58	0,65	0,351
N- Creatinina	1,31 ^a	1,32 ^a	1,38 ^{ab}	1,42 ^b	0,01	0,022
	<i>Sangue (mg/dL)</i>					
Ureia	65,96	68,13	67,62	62,44	1,23	0,391
Creatinina	0,75 ^a	0,22 ^b	0,16 ^b	0,23 ^b	0,07	0,003
N-Ureico	30,73	30,73	31,51	29,10	0,57	0,391
N- Creatinina	0,28 ^a	0,08 ^b	0,06 ^b	0,09 ^b	0,02	0,017
	<i>Excreção (mg/kg PV)</i>					
Ureia	50,82 ^b	62,68 ^a	63,70 ^a	63,04 ^a	0,23	0,008
Creatinina	28,50 ^a	28,47 ^{ab}	28,34 ^b	28,57 ^a	4,89	0,004
	<i>Clearance (24 horas)</i>					
Ureia	0,77 ^b	0,92 ^a	0,94 ^a	1,00 ^a	0,07	0,006
Creatinina	58,97 ^b	179,75 ^a	197,24 ^a	153,23 ^a	21,18	0,016
	<i>Excreção fracional (%)</i>					
Ureia	2,21 ^a	0,70 ^b	0,59 ^b	0,90 ^{ab}	0,25	0,039

EPM= Erro Padrão da Média. SEM= Semana. *Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na Figura 1 a dieta não teve efeito ($P = 0,201$) sobre $N-NH_3$ durante as semanas apenas para os tempos ($P=0,001$), no tempo 0h diferiu-se da segunda a quarta semana, já a primeira e segunda semana não se diferem entre si. No tempo 2h apenas a quarta semana difere das demais, apresentando um pico para as concentrações de $N-NH_3$ após duas horas de fornecimento da dieta. No tempo 4h, apenas a terceira semana difere das demais, já com tempo 6h a primeira e segunda semana apresentam mais $N-NH_3$ de que a terceira e quarta semana. E o menor valor de $N-NH_3$ se apresenta na quarta semana no tempo 8h.

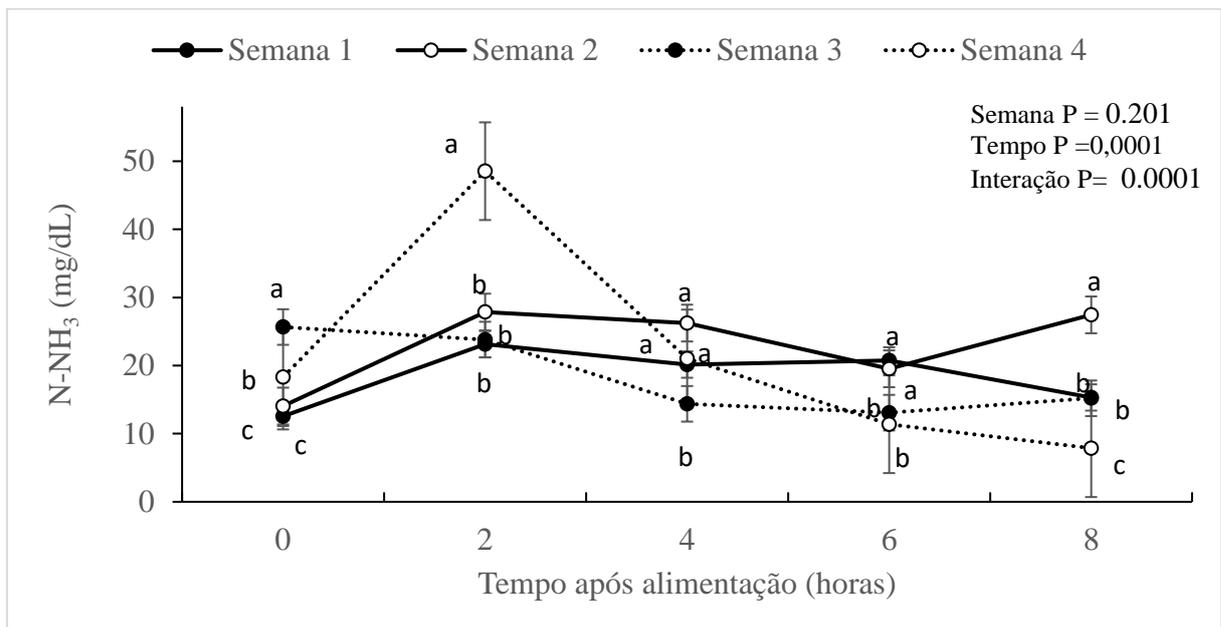


Figura 1. Valores médios de Nitrogênio Amoniacal Ruminal em novilhos consumindo diferentes dietas de adaptação.

Os valores de pH na Figura 2 sofrem efeito da dieta tanto em tempo quanto por semana ($P < 0,05$), aumentando na troca de dieta da primeira para a segunda semana chegando ao pH de 6,82, mas depois reduziu conforme a inclusão de amido aumentou na dieta chegando a ter valor mínimo na quarta semana de 6,34 (Figura 2). A segunda semana apresenta maior pH entre as semanas, mas não se difere entre os tempos. E no quarto período há um pico de pH, duas horas após o fornecimento da dieta, o pH de 6,34 passa para 6,62 e depois retorna a 6,4 ($P < 0,05$).

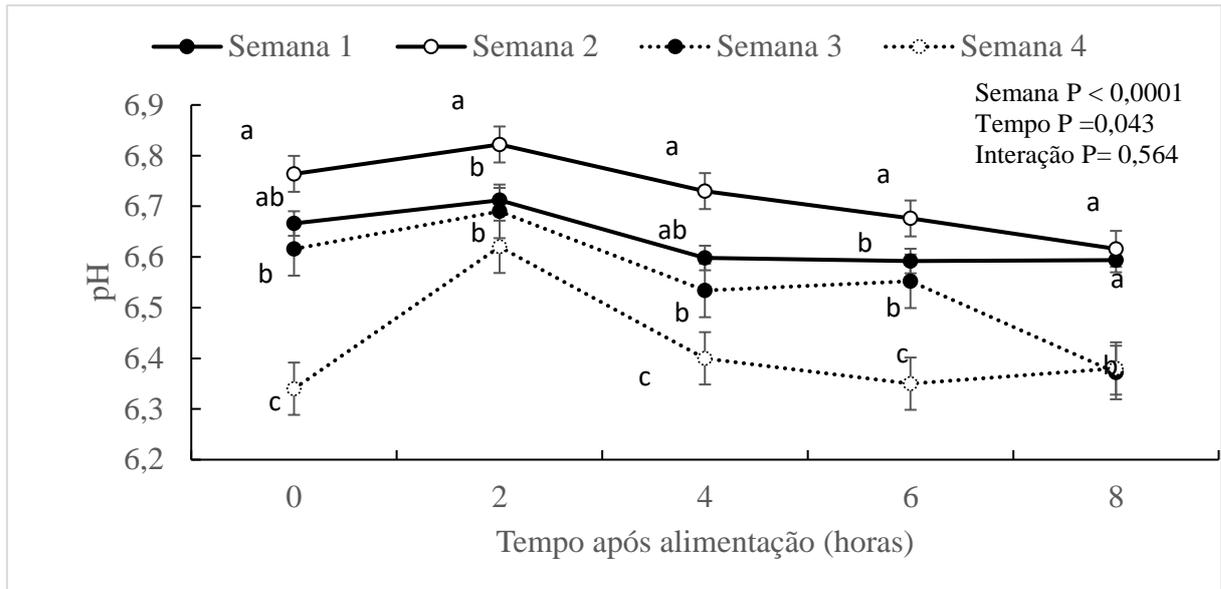


Figura 2. Valores médios de pH do líquido ruminal em novilhos consumindo diferentes dietas de adaptação.

1.6 DISCUSSÃO

Mandarino et al. (2013), também não encontraram diferença no consumo e digestibilidade de MS entre as dietas, em trabalho desenvolvido no Brasil com bovinos recebendo três dietas, sendo uma de concentrado peletizado, outra de milho grão e pellet proteico-mineral-vitamínico e uma convencional com silagem de milho como volumoso.

Foi observado aumento de PB e a redução de FDN, isso se explica pela composição da dieta com maior proporção de milho grão inteiro e pellet proteico-mineral-vitamínico, onde a ureia aumenta o valor de PB da dieta, quanto a digestibilidade de acordo com Detmann et al. (2005) o baixo crescimento microbiano pelo fornecimento inadequado da PB, impede o aproveitamento correto da dieta. Já a redução de FDN, da primeira para quarta semana, se explica pela redução nas dietas de alimentos menos fibrosos que possui baixo teor de FDN, esse que é o valor mais utilizado para o peso total da parece celular, é composto por celulose, hemicelulose, lignina e proteína desnaturada por calor (HULSEN e AERDEN, 2016).

A digestibilidade de amido reduzida é explicada pelo aumento de taxa de passagem de milho grão inteiro, pois no último período determinou-se recuperação de 382,78 g/kg ($P < 0,05$). Essa premissa se torna verdadeira já que a taxa de passagem ou de trânsito se refere ao fluxo de

resíduos não digeridos através do trato digestório que inclui o fluxo ruminal inclui além da fibra indigestível, bactérias e outras frações não degradadas do alimento. (VAN SOEST, 1994).

O aumento de consumo de nitrogênio (Tabela 5) se explica pela composição da dieta no quarto período ter maior quantidade de PB (Tabela 4), com maior proporção de nitrogênio não proteico. Já com relação ao balanço de compostos nitrogenados Detmann et al. (2005) ressaltaram que baixo crescimento microbiano pode ocorrer caso os compostos nitrogenados sejam fornecidos de forma inadequada, impedindo o aproveitamento correto da dieta ofertada.

Em bovinos as purinas são utilizadas para estimar a síntese de proteína microbiana no rúmen, elas são convertidas em ácido úrico na mucosa intestinal, chegando ao fígado de forma não disponível ao animal para que possa realizar incorporação nos nucleotídeos de seus tecidos (KOZLOSKI, 2016). Porém grande parte do ácido úrico é convertida à alantoína no fígado e nós rins dos bovinos, assim nesse experimento (Tabela 6) na quarta semana ocorreu uma redução significativa ($P < 0,05$) na quantidade de alantoína produzida, o que indica que a dieta com alta quantidade de concentrado irá interferir na síntese de proteína microbiana, condizendo com a redução de nitrogênio e proteína bruta ($P < 0,05$), na quarta semana. E essas informações estão de acordo com Rennó et al. (2000) que dizem que pode ocorrer diminuição na passagem de proteína microbiana para o intestino delgado, quando se utilizam dietas com mais de 70% de concentrado, em virtude da alta taxa de degradação de carboidratos não-estruturais.

A partir da dieta com menos de 50% de volumoso, não foi observado diferença nesse experimento (Tabela 7) quanto o clearance de ureia, o que é explicado pelo que diz Van Soest (1994), que os microrganismos necessitam de uma adequada fonte de nitrogênio para assim utilizarem na forma de amônia. Pois amônia ruminal é proveniente da degradação de proteínas, peptídeos, aminoácidos e de outras substâncias nitrogenadas, além da reciclagem via saliva ou difusão pela parede ruminal. E quando não aproveitados pelo organismo são eliminados na urina. Por isso avaliou o clearance da ureia, que esta relacionada à dieta, e não a creatinina que é mais fidedigna para avaliação renal.

Contribuindo para que essa premissa citada anteriormente se torne verdadeira, a ureia que é sintetizada no fígado é de alta relevância para parâmetro de interferência da dieta no organismo, atuando como indicador do metabolismo proteico. Devido sua concentração sanguínea esta diretamente relacionada à quantidade de proteína e ureia fornecida na dieta, por meio da dieta os microrganismos ruminais liberam amônia para serem convertidas em ureia no fígado (GONZÁLEZ et al., 2000).

A composição da dieta na quarta semana com mais PB, justifica a disponibilidade de amônia (Figura 1) na última semana, onde primeiro ocorre um pico de N- NH₃ com a digestão do alimento nas duas primeiras horas após a alimentação, depois é absorvido gradativamente pelo epitélio ruminal, diminuindo novamente. Fregadolli et al. (2001), encontrou resultado semelhante em seu trabalho com utilização de dieta contendo amido e nitrogênio de diferentes degradabilidades ruminais, onde os picos de concentração de N-NH₃ também foram observados nos tempos de 2 horas após as alimentações.

A retira de volumoso da dieta dos novilhos na quarta semana também favoreceu para que após 2h de alimentação tivesse o pico de N-NH₃. Cabe lembrar que concentração mínima de N- NH₃ ruminal para que o rúmen tenha um correto funcionamento concentrações acima de 5mg/dL, nesse trabalho durante os quatros períodos (Figura 1) a concentração de N- NH₃ ruminal esteve acima de 5mg/dL (D'AUREA et al, 2017).

Bactérias amilolíticas atuam em pH mais baixo, menor que 5,8, e considera-se uma faixa de pH ideal no rúmen entre 5,5 e 7,0 (FURLAN et al., 2011). E as oscilações de pH (Figura 2) nesse experimento é justificado com a informação de Oliveira et al. (2016), onde dizem que a presença de carboidratos não fibrosos na dieta leva ao desequilíbrio no pH, já que apresentam alta taxa de fermentação, levando à redução do pH ruminal.

No caso do milho, temos evidências de que o fator físico influencia sua qualidade nutricional, não dependendo apenas de sua composição química como em outros alimentos. (PIOVESAN; OLIVEIRA; GEWEHR, 2011). Em dieta de grão de milho inteiro, sua estrutura física precisa ser rompida durante o processo de mastigação, pois para que a degradação ruminal do amido do grão de milho ocorra precisamos que o grão sofra rupturas físicas em seu endosperma, conseqüentemente também a colonização e ataque microbiano.

Como citado anteriormente, a estrutura física do milho contribuiu para que em nenhum período houvesse valores de pH menores que 6,3. Mesmo quando esta na quarta semana onde há o maior nível de amido, o pH se manteve na faixa ideal, já que o amido não é disponível de forma imediata, pois se faz necessário a mastigação e processo de ruminação para sua liberação ao ataque microbiano, e isso ocorre de forma mais lenta comparado ao fornecimento de milho farelado ou triturado (HULSEN e AERDEN, 2016).

E também os valores de N-NH₃ estão relacionados ao pH, logo o aumento desse entre as semanas (Figura1), faz com que não haja queda de pH inferior a 6,3.

A forma de fornecimento de milho inteiro neste experimento, em mais de uma vez ao dia, contribuiu para controle de pH, além da utilização de milho classificado como duro e semiduro. Isso faz com que seja necessário maior tempo de ruminação e conseqüente maior produção de saliva, contribuindo assim para equilíbrio de pH.

Na quarta semana o pico de pH, duas horas após o fornecimento da dieta, tem relação com maior fornecimento de concentrado que possui na sua composição aditivos para tamponar o pH, tendo efeito de duas horas após a alimentação.

1.7 CONCLUSÃO

Por meio da avaliação das dietas de adaptação, conclui-se que o pH se mantém dentro do fisiológico para ruminantes em todos os períodos. O consumo e digestibilidade sofrem influência de acordo com a composição da dieta, e a síntese de proteínas microbianas são reduzidas com inclusão de maior concentrado. Logo não se faz necessária a adaptação.

1.8 REFERÊNCIAS

ANTUNES, R. C.; RODRIGUEZ, M. N.; SALIBA, E. O.S. Metabolismo dos carboidratos não estruturais. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**, Jaboticabal, Funep, 2011, p. 239-260.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. **Agricultural Chemical; Contaminants; Drugs**. Arlington: AOAC, v.1, n.15, 768p., 1990.

BROWN, M. S.; PONCE, C. H.; PULIKANTI, R. Adaptation of beef cattle to high-concentrate diets: Performance and ruminal metabolism. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. suppl_13, p. E25-E33, 2006.

CASALI, A. O. et al. Revista Brasileira de Zootecnia Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em sacos de diferentes tecidos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 1, p. 130–138, 2009

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. (Occasional publication) **INTERNATIONAL FEED RESEARCH UNIT**. Bucksburnd, Aberdeen:Rowett Research Institute. 21p. 1992.

D'AUREA, A. P. et al. Glycerin associated with urea in finishing cattle: ruminal fermentation, digestibility and microbial mass. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 1, p. 146-154, 2017.

DETMANN, E. et al. Níveis de proteína em suplementos para terminação de bovinos em pastejo durante o período de transição seca/águas: Consumo voluntário e trânsito de partículas. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.34, p. 1371-1379, 2005.

DETMANN, E. et al. Métodos para análise de alimentos - INCT - **Ciência Animal**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. 214p.

FREGADOLLI, F. L. et al. Efeito das fontes de amido e nitrogênio de diferentes degradabilidades ruminais.2. pH, concentração de amônia no líquido ruminal e eficiência de síntese microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 870–879, 2001.

FUJIHARA, T. et al. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agriculture Science**, v. 109, n. 1, p. 7-12, 1987.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D. E. Anatomia e Fisiologia do Trato Gastrointestinal. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**, Jaboticabal, Funep, 2011, p. 1-23.

GALYEAN, M.L.; M.E. HUBBERT. Traditional and alternative sources of fiber - roughage values, effectiveness, and concentrations in starting and finishing diets. **The Professional Animal Scientist**, v 30, n. 6, p. 571-584, 2014.

GONZÁLEZ, F. H. D. et al. Variações sanguíneas de ureia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. **A hora veterinária**, v. 20, p. 59-62, 2000.

HULSEN, J; AERDEN, D. **Feeding Signals**. Netherlands: Roodbont Publishers B. V., 2016. 80 p.

KOZLOSKI, G. V. Digestão, absorção e metabolismo visceral. In: _____. **Bioquímica dos Ruminantes**. Santa Maria: ufms, 2016. 212 p.

MADARINO, R.A. et al. Desempenho produtivo e econômico do confinamento de bovinos zebuínos alimentados com três dietas de alto concentrado. **Arq. Bras. Med. Zootec.** v.65, n.5, p.1463-1471, 2013.

MERTENS, D.R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.1217-1240, 2002.

OLIVEIRA, V. DA S.; SANTANA NETO, J. A.; VALENÇA, R. DE L. Chemical and Physiological Characteristics of Rumen Fermentation in Grazing Cattle - Review. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 11, n. 20, 2013.

OLIVEIRA, V. DA S. et al. Carboidratos fibrosos e não fibrosos na dieta de ruminantes e seus efeitos sobre a microbiota ruminal. **Veterinary News**, v. 22, n. 2, p. 1-18, 2016.

OWENS, F. N. et al. Acidosis in cattle : a review. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 1, p. 275–286, 1998.

PIOVESAN, V.; OLIVEIRA, V.; GEWEHR, C.E. Milhos com diferentes texturas de endosperma e adição de alfa-amilase na dieta de leitões. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.11, p.2014-2019, 2011.

RENNÓ, L. N. et al. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purinas na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 4, p. 1223-1234, 2000.

RENNÓ, L. N. **Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros ruminais e excreções de ureia e creatinina em novilhos alimentados com dietas contendo quatro níveis de ureia ou dois níveis de proteína**. Viçosa MG; UFV 2003. 252p. (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.

TURGEON, O. A. et al. Manipulating grain processing method and roughage level to improve feed efficiency in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 1, p. 284–295, 2010.

VALADARES, R.F.D. et al. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.11, p.2686-2696. 1999.

VAN SOEST P. J.; ROBERTSON, J.; LEWIS B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P. J. **Nutrition ecology of ruminants**. Ithaca. Cornell University Press, 476 p., 1994.

VAN SOEST, P.J.; WINE, R.H. The determination of lignin and cellulose in acid-detergent fibre with permanganate. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v.51, p.780-785, 1968.

VERBIC, J. et al. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. **Journal of Agricultural Science**, v.114, n.3, p.243-248, 1990.

WALTER, M; SILVA, L. P.; PERDOMO, Daiana, M. X. Amido disponível e resistente em alimentos: adaptação do método da AOAC 996.11. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 1, p. 39-43, 2005.

1 **2 ARTICLE**2 **Protocol of adaptation to diets containing whole grain corn for feedlot cattle**

3

4 Hulle Lívia Costa Brito¹, Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Goes², Antonio
5 Campanha Martinez³, Jefferson Rodrigues Gandra⁴, Beatriz Cervejeira Bolonho³ Mayara
6 Andressa Sabedot⁴, Raquel Tenório de Oliveira⁵, Nayara Gonçalves da Silva⁵, Thaiano Iranildo
7 de Sousa Silva⁵

8

9 **ABSTRACT:** The present study evaluated the adaptation of steers to feedlot diets using whole
10 grain corn. Five cannulated steers were randomly assigned to treatments consisting of diets with
11 forage and concentrate in the respective proportions (%) of 50:50, 40:60, 20:80 and 0: 100, and
12 each diet corresponded to one experimental week. Evaluations were made for ruminal
13 fermentation, nutrient intake and digestibility, nitrogen balance and microbial protein
14 synthesis in steers fed diets containing whole grain corn. There were no differences in intake
15 and digestibility of DM, but there was an increase in CP intake between treatment periods (P
16 <0.05) and reduction in NDF intake ($P <0.05$). The excretion of total purines from the 1st to the
17 4th week ranged from 11.66 to 10.21 mmol/L, ammonia nitrogen from 7.87 to 48.54 mg/dL and
18 pH varied between 6.34 and 6.82. We conclude that adaptation is not necessary.

19

20 **Key words:** intake, ruminal fermentation, whole grain diet, whole grain corn, purine
21 derivatives, microbial protein synthesis.

22

23

¹ Discente no Programa de Pós Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal / Universidade Estadual de Maringá

E-mail correspondente:hullelivia@hotmail.com/ Endereço: Chácara Água Bela 2500, Goioerê

² Docente na Universidade Federal da Grande Dourados/ orientador

³ Docente na Universidade Estadual de Maringá

⁴ Docente na Universidade Federal da Grande Dourados

⁵ Discente na Universidade Federal da Grande Dourados

24 INTRODUCTION

25 The main component of corn is starch, a polysaccharide formed by amylose and
26 amylopectin. Amylose consists of a linear chain of glucose units, in turn, amylopectin is formed
27 by a branched chain (Antunes et al., 2011). The branched nature of amylopectin provides
28 greater facility for ruminal microbial attack, compared to amylose.

29 For degradation of starch in the rumen, there is hydrolysis by bacterial α - and β -
30 amylases and also by α -glycosidases. Residual carbohydrates that are not degraded in the rumen
31 pass into the small intestine and undergo pancreatic enzyme action, or may reach the large
32 intestine and ferment in the same manner as in the rumen (Kozloski, 2016).

33 Diets containing high amounts of starch increase the production of volatile fatty acids
34 (VFA) and decreases ruminal pH (Owens et al., 1998). The fermentation of soluble
35 carbohydrates leading to the decrease in ruminal pH is due to the higher production of short
36 chain fatty acids (SCFA), mainly propionate via the lactic acid pathway, which can accumulate
37 in the rumen, reducing the digestion of fiber (Van Soest, 1994). The production of propionate
38 from degradation of starch reduces the production of acetate and butyrate, being associated with
39 the high content of carbohydrates of rapid fermentation is related with the death of fibrolytic
40 bacteria and protozoa caused by the reduction of ruminal pH (Oliveira et al, 2013).

41 In grain-rich diets there is a small percentage of fiber inclusion, with the role of
42 preventing nutritional disorders, such as acidosis, and maximizing net energy consumption
43 (Galyean and Hubbert, 2014).

44 Due to the risk of nutritional disorders in diets with a high proportion of starch,
45 adaptation is considered a critical period, so it is recommended that an adaptation should not be
46 less than 14 days (BROWN; PONCE; PULIKANTI, 2006). Turgeon et al. (2010) established a
47 corn supply protocol for adaptation to the whole grain diet, described as follows: 1st to 5th day:

48 offer 1.3 to 1.5% body weight, 6th to 10th day: offer 1.5 to 1.7% body weight, 10th to 14th day:
49 offer 1.8 to 2.0% body weight. After the 15th day: gradually increase dry matter every three
50 days according to acceptance of the animals up to 2.3% body weight.

51 For balance in a high grain diet, the ratio used will generally be 85% whole grain corn
52 and 15% protein-mineral-vitamin pellet, so there is a highly energetic diet (Mandarino et al.,
53 2013).

54 The goal of the present study was to evaluate the adaptation of cattle fed diets containing
55 whole grain corn on the hypothesis that adaptation is not necessary.

56

57 **MATERIAL AND METHODS**

58 The experiment was conducted in the Ruminant Nutrition sector and the Animal
59 Nutrition Laboratory, Animal Science Department, Federal University of Grande Dourados,
60 State of Mato Grosso do Sul, latitude 22°14'S, longitude 54°49'W and 450 m altitude, between
61 January and February 2018.

62 This experiment was conducted in accordance with the provisions of Law 11,794, dated
63 October 08, 2008, Decree 6,899, of July 15, 2009, and with the regulations of the National
64 Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA), approved by the Ethics
65 Committee on the Use of Animals (CEUA/UFGD) of the Federal University of Grande
66 Dourados, at a meeting on December 11, 2015, on protocol 23/2015. Five crossbred cattle with
67 cannulas in the rumen were used, weighing average 350 kg, kept in individual stalls of 8 m²
68 (2x4), roofed, concrete floor, provided with drinking fountain and feeder.

69 At the end of each experimental period, the animals were weighed on the 7th day and
70 the diet adjusted for each animal according to the weight obtained. The animals were fed three
71 times a day, receiving on average 2.3% dry matter (DM) of diet per kg body weight (BW). The

72 diet of each animal was weighed and provided individually, the next morning the leftovers were
73 collected and weighed, thus we determined the intake by means of the difference of the total of
74 diet supplied minus the leftovers. And this leftover was used to adjust the diet of each
75 experimental day. No chemical analysis was performed on the leftovers, but considering the
76 ingredient, we observed a greater amount of hay.

77 The adaptation diet was composed of oat hay, whole grain corn and protein-mineral-
78 vitamin pellet, the food composition is described below in Table 1.

79 The experiment was divided in four weeks, each week a different diet was provided.
80 The animals were fed until the 3rd period 3 times a day, considering the capacity of the trough,
81 when we removed the forage from the fourth period, passed to 2 daily meals. For the diet, the
82 forage was oat hay and the concentrate was composed of 85% whole grain corn and 15%
83 protein-mineral-vitamin pellet, as listed in Table 2, and in Table 3, the percentage of the
84 chemical composition of ingredients on a dry matter basis.

85 From the 3rd to the 5th day, two fecal samples were collected from each steer
86 immediately after defecation, and the samples were collected once in the morning and once in
87 the afternoon. A sample was used to determine the fecal pH, using a portable digital pHmeter
88 and another sample for percentage of grain recovery from feces. The pH determinations were
89 performed immediately after the collection by means of portable digital pHmeter; the recovery
90 was performed after washing with running water, on a 2 mm sieve, of approximately 200 g of
91 faces. Subsequently, the samples were placed on aluminum trays, properly identified and taken
92 to a forced ventilation oven (55°C); ground in a knife mill with a 3 mm sieve and at the end of
93 each period, a composite sample was made per animal.

94 Grain recovery from feces was determined by dividing the weight after washing, by the
95 initial weight of the sample and multiplied by 100, in order to obtain the result in percentage.

96 Samples of concentrate and forage of the diet and feces were analyzed for dry matter
97 (DM: method 930.15), crude protein (CP: $N \times 6.25$, method 984.13) and mineral matter (MM:
98 method 942.05) according to methodologies of AOAC (1991). The content of acid detergent
99 fiber (ADF) was determined as described by Van Soest et al. (1991); lignin (LIG) content was
100 obtained by oxidation with potassium permanganate (VAN SOEST and WINE, 1968). For
101 neutral detergent fiber (NDF) analyses, the samples were treated with heat stable alpha-amylase
102 without the addition of sodium sulfite and corrected for ash (Mertens, 2002). The digestible
103 starch contents of the diets were determined according to the adapted method of AOAC 996.11
104 (Walter et al., 2005).

105 The internal indicator used in this experiment was indigestible neutral detergent fiber
106 (NDFi). Samples packed in non-woven fabric bags were incubated in the rumen of one steer
107 for 288 hours, samples were incubated in duplicates of each dietary ingredient and the
108 composite sample of feces of each steer (Casali et al., 2009). After the incubation period, the
109 bags were removed, washed with running water until fully bleached, and subjected to neutral
110 detergent extraction (Mertens, 2002).

111 On the 6th experimental day, samples of ruminal contents were collected manually 0, 2,
112 4, 6 and 8 hours after receiving the diet, the collection was carried out in the ruminal
113 environment between the liquid and solid layers, and the content immediately filtered through
114 a triple layer of cheesecloth. After filtration, the content was used for the pH determinations,
115 which were performed immediately after the collection by means of portable digital pHmeter.
116 For the determination of ammonia nitrogen (NH_3-N), an aliquot of 40 mL was separated, which
117 was fixed with 1 mL 1:1 HCl, and stored in a glass container with a polyethylene cap, identified
118 for further analysis. The determination of the NH_3-N contents was performed according to the
119 INCT-CA N007/1 method described by Detmann et al. (2012).

120 On the 6th day of each experiment, as of 4 hours after the first meal of the day, blood
121 samples were drawn by puncturing the caudal vena cava using Vacutainer[®] tubes and the blood
122 samples were immediately centrifuged at $2,700 \times g$ for 15 minutes and serum aliquots were
123 frozen (-20°C) for further determination of plasma urea and creatinine by colorimetry using
124 commercial Doles[®] kits.

125 At the same time of blood collection, urine was also collected with a 0.5 L canister
126 attached to the end of a 1-meter wooden handle, the collection was spot-on and spontaneous
127 urination of the steers, and two aliquots were stored. The first of 10 mL was diluted in 40 mL
128 sulfuric acid (0.036 N) to determine the concentration of creatinine, urea, uric acid and
129 allantoin, according to the standardization of Valadares et al. (1999). The second aliquot of 50
130 mL was stored in 1 mL sulfuric acid (36 N) and used to determine the total urinary N content.
131 Samples were immediately frozen at -20°C for further analysis. Allantoin analyses were
132 performed using the colorimetric method, according to Fujihara et al. (1987), described by Chen
133 and Gomes (1992). Doles[®] commercial kits were used to determine creatinine and uric acid
134 concentrations.

135 The total excretion of purine derivatives (PD) was calculated by summing the amounts
136 of allantoin and uric acid excreted in the urine, expressed in mmol/day. Absorbed microbial
137 purines (Pabs, mmol/day) calculated from the excretion of purine derivatives in urine (PD,
138 mmol/day), by the equation: $\text{PD} = 0.85 \cdot \text{Pabs} + 0.385 \cdot \text{BW}^{0.75}$, in which 0.85 is the recovery of
139 purines absorbed as urinary purine derivatives and $0.385 \cdot \text{BW}^{0.75}$ is the endogenous
140 contribution to purine excretion (Verbic et al., 1990).

141 The total urinary volume was determined by means of the relationship between
142 creatinine concentration in urine and its excretion per unit body weight, with a creatinine value
143 of 27.36 mg/kg being used as standard and to calculate the volume of 24 hours, we used the

144 equation $27.36 \text{ mg/kg} \cdot \text{BW} : \text{VU (l/day)} = (27.36 \times \text{BW} / [\text{creatinine}])$, obtained by Rennó (2003)
 145 in crossbred and zebu steers, BW is the body weight of the animal and [creatinine] is the
 146 creatinine concentration, in mg/L, found in the spot urine sample of the animals.

147 The daily excretions of urea-N and creatinine-N were obtained by the product of the
 148 urea and creatinine concentrations by the 24-hour urinary volume, multiplied by 0.466 or
 149 0.3715, corresponding to the levels of N in urea and creatinine, respectively. From the mean
 150 daily creatinine excretion obtained in the experiment in mg/kg BW/day and the creatinine
 151 concentration (mg/L) in the spot urine sample.

152 The data obtained were tested by analysis of variance by the PROC MIXED command
 153 of the program Statistical Analysis System version 9.2 (SAS, 2009). A completely randomized
 154 design was used, following the model below:

$$155 \quad Y_{ijl} = \mu + D_i + e_{ijl}$$

156 where μ = overall mean, D_i = fixed effect of diet and e_{ij} = error.

157 Ruminal fermentation data were subjected to the REPEATED PROC MIXED command
 158 for the evaluation of measurements repeated in time, following the model below:

$$159 \quad Y_{ij} = \mu + D_i + t_j + D_i(t_j) + e_{ij}$$

160 where: μ = overall mean, D_i = fixed effect of diet, t_j = fixed effect of harvest time (0, 2,
 161 4, 6, 8, 10, 12 hs), $D_i(t_j)$ = interaction and e_{ij} = error.

162 To evaluate the differences between treatments, data were tested by Tukey's test. The
 163 results are presented as LSMEANS and the declared significance $P \leq 0.05$.

164

165 RESULTS

166 The evaluated diets showed no effects on DM intake, for CP, the diets had an effect (P
 167 < 0.05), where in the first week, intake was 22.38% lower than in the last week; 1.04 kg/day x

168 1.34 kg/day (Table 4). However, they had no effect on digestibility of DM ($P = 0.400$) and CP
169 ($P = 0.096$). For the NDF intake and digestibility, they caused a reduction ($P < 0.0001$ and $P =$
170 0.003 , respectively). As for starch, diets had no effect on intake ($P > 0.05$) between weeks, but
171 digestibility was reduced ($P < 0.05$), especially in the week with the highest excretion of corn in
172 the feces ($P > 0.05$).

173 In Table 5 (week 4), the diet had an effect on nitrogen intake ($P = 0.006$), but there was
174 also an increase in nitrogen compounds excreted in feces ($P = 0.007$) and urine ($P = 0.006$) ($P >$
175 0.05); in this way, when nitrogen balance is observed, there was no difference ($P > 0.05$) from
176 the first to the fourth week.

177 Nitrogen excretion increased according to the increase of whole grain corn and protein-
178 mineral-vitamin pellet in the diet, a similar trend was found for N intake (Table 5), but retained
179 and absorbed N had no effect ($P = 0.612$ and $P = 0.632$).

180 The diets had an effect on purine derivatives excretions (Table 6). Uric acid did not
181 present statistical difference ($P > 0.05$); for allantoin there was reduction for the fourth week (P
182 < 0.05). The same behavior was observed for the synthesis of N and microbial protein.

183 Urea clearance levels ($P = 0.006$) increased from the time the diet had hay inclusion
184 below 50% (Table 7) and there was an increase in protein-mineral-vitamin pellet inclusion in
185 the diet, and this increase in clearance values are related to diet composition, mainly with
186 increase in N consumption ($P = 0.006$) as shown in Table 5.

187 In Figure 1, the diet had no effect ($P = 0.201$) on $\text{NH}_3\text{-N}$ during the weeks only for the
188 times ($P = 0.001$), at time 0h, the second week differed from the fourth, but the first and second
189 week did not differ from each other. At time 2h, only the fourth week differed from the others,
190 presenting a peak for $\text{NH}_3\text{-N}$ concentrations after two hours of diet supply. At time 4h, only the
191 third week differed from the others, in turn, at time 6h, the first and second week presented

192 more NH₃-N than the third and fourth weeks. And the lowest value of NH₃-N was observed in
193 the fourth week in time of 8h.

194 The pH values (Figure 2) were influenced by the diet both in time and week ($P < 0.05$),
195 increasing in the diet change from the first to the second week reaching the pH of 6.82, but then
196 reduced according to the increasing inclusion of starch in the diet, reaching a minimum value
197 (6.34) in the fourth week (Figure 2). The second week showed higher pH between weeks, but
198 did not differ between the times. And in the fourth period, there was a pH peak, two hours after
199 the diet supply, the pH of 6.34 increases to 6.62 and then returns to 6.40 ($P < 0.05$).

200

201 **DISCUSSION**

202 Mandarino et al. (2013) also found no difference in DM intake and digestibility between
203 diets in a study carried out in Brazil with cattle receiving three diets, one of pelleted concentrate,
204 another of corn grain and protein-mineral-vitamin pellet, and one conventional with corn silage
205 as forage.

206 It was observed an increase in CP and a reduction in NDF, this is explained by the
207 composition of the diet with a higher proportion of whole grain corn and protein-mineral-
208 vitamin pellet, where urea increases the CP value of the diet. As for digestibility, according to
209 Detmann et al. (2005), the low microbial growth due to the inadequate supply of CP prevents
210 the correct use of the diet. The reduction in NDF, from the first to the fourth week, is explained
211 by the reduction of low-fiber foodstuffs, which has low NDF content, which is the value most
212 used for the total weight of the cell sample, which is composed of cellulose, hemicellulose,
213 lignin and heat-denatured protein (Hulsen and Aerden, 2016).

214 Reduced starch digestibility is explained by the increase in passage rate of whole grain
215 corn, since in the last period a recovery of 382.78 g/kg ($P < 0.05$) was determined. This

216 assumption becomes true since the transit or passage rate refers to the flow of undigested
217 residues through the digestive tract, which includes the ruminal flow and includes, in addition
218 to the indigestible fiber, bacteria and other undegraded fractions of the food (Van Soest, 1994).

219 The increase in nitrogen intake (Table 5) is because the diet in the fourth period had
220 higher amount of CP (Table 4), with a higher proportion of non-protein nitrogen. Concerning
221 nitrogen compounds balance, Detmann et al. (2005) pointed out that low microbial growth can
222 occur if nitrogen compounds are inadequately supplied, impeding the correct use of the diet
223 offered.

224 In cattle, purines are used to estimate the synthesis of microbial protein in the rumen,
225 they are converted to uric acid in the intestinal mucosa, reaching the liver in a form not available
226 to the animal for incorporation into the nucleotides of its tissues (Kozloski, 2016). However,
227 most of the uric acid is converted to allantoin in the liver and kidneys of the cattle, so in this
228 experiment (Table 6), in the fourth week there was a significant reduction ($P < 0.05$) in the
229 amount of allantoin produced, indicating that the diet with high amount of concentrate will
230 interfere with the synthesis of microbial protein, in agreement with the reduction of nitrogen
231 and crude protein ($P < 0.05$), in the fourth week. And this information is in agreement with
232 Rennó et al. (2000), who reported that a decrease in the passage of microbial protein to the
233 small intestine may occur when diets with more than 70% concentrate are given, because of the
234 high degradation rate of non-structural carbohydrates.

235 From the diet with less than 50% forage, no difference was detected in this experiment
236 (Table 7) with respect to urea clearance, which is explained by Van Soest (1994);
237 microorganisms need an adequate source of nitrogen to use in the form of ammonia. Because
238 ruminal ammonia comes from the degradation of proteins, peptides, amino acids and other
239 nitrogen substances, besides the recycling via saliva or diffusion through the ruminal wall, and

240 when unused by the body, are eliminated in the urine. Therefore, we evaluated the clearance of
241 urea, which is related to diet, and not the creatinine that is more reliable for renal evaluation.

242 Contributing to this premise, urea, which is synthesized in the liver, is highly relevant
243 for the interference of diet on the body, acting as an indicator of protein metabolism. Due to its
244 blood concentration, it is directly related to the amount of protein and urea supplied in the diet;
245 through the diet the ruminal microorganisms release ammonia to be converted to urea in the
246 liver (González et al., 2000).

247 The composition of the diet in the fourth week with more CP, justifies the availability
248 of ammonia (Figure 1) in the last week, where a $\text{NH}_3\text{-N}$ peak first occurs with the digestion of
249 the food in the first two hours after feeding, then is absorbed gradually by the ruminal
250 epithelium, decreasing again. Fregadolli et al. (2001) reported similar results with a diet
251 containing starch and nitrogen with different ruminal degradability, where the peaks of
252 concentration of $\text{NH}_3\text{-N}$ were also observed in the time of 2 hours after the meals.

253 The removal of forage from the diet of steers in the fourth week also favored the peak
254 of $\text{NH}_3\text{-N}$ after 2h of feeding. The minimal concentration of ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ for a correct
255 functioning of the rumen is 5mg/dL; in this study, during the four periods (Figure 1) the
256 concentration of ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ was above 5mg/dL (D'Aurea et al., 2017).

257 Amylolytic bacteria work at lower pH, less than 5.8, and an ideal pH range in the rumen
258 is considered to be between 5.5 and 7.0 (Furlan et al., 2011). And the pH oscillations (Figure
259 2) in this experiment is justified with the information of Oliveira et al. (2016), where they say
260 that the presence of non-fiber carbohydrates in the diet leads to pH imbalance, since they have
261 a high fermentation rate, leading to a drop in ruminal pH.

262 In the case of corn, there is evidence that the physical factor influences its nutritional
263 quality, not only depending on its chemical composition as in other foods. (Piovesan et al.,

264 2011). In a whole corn grain diet, the physical structure of corn needs to be broken during the
265 chewing process, because in order for rumen degradation of corn starch to occur, it is necessary
266 the physical breakdown of the grain endosperm, consequently microbial colonization and
267 attack.

268 As previously mentioned, the physical structure of corn contributed to the fact that in
269 no period there were pH values lower than 6.3. Even in the fourth week in which there was the
270 highest level of starch, the pH remained in the ideal range, since the starch is not available
271 immediately, since it is necessary the chewing and rumination process for its release to
272 microbial attack, and this occurs more slowly compared to the supply of ground or crushed corn
273 (Hulsen and Aerden, 2016).

274 Also, $\text{NH}_3\text{-N}$ values are related to pH, thus, its increase between weeks (Figure 1) means
275 that there is no pH drop below 6.3.

276 The supply of whole grain corn in this experiment, more than once a day, contributed to
277 pH control, besides the use of corn classified as hard and semi-hard. This makes it necessary to
278 increase rumination time and consequently more saliva production, thus contributing to pH
279 balance.

280 In the fourth week, the pH peak, two hours after the diet supply, is related to the supply
281 of more concentrate, which contains in its composition pH buffering additives, with effects two
282 hours after feeding.

283

284 **CONCLUSION**

285 By means of the evaluation of the adaptation diets, it is concluded that the pH remains
286 within the physiological range for ruminants in all periods. Intake and digestibility are

287 influenced according to diet composition, and the synthesis of microbial proteins is reduced
288 with the inclusion of more concentrate. Therefore, adaptation is not necessary.

289

290 **REFERENCES**

291

292 ANTUNES, R. C.; RODRIGUEZ, M. N.; SALIBA, E. O.S. 2011. Metabolismo dos
293 carboidratos não estruturais. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S. G.
294 **Nutrição de Ruminantes**, Jaboticabal, Funep, 2011, p. 239-260.

295

296 AOAC – Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 1990.
297 Agricultural Chemical; Contaminants; Drugs. Arlington: AOAC.
298 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013135>.

299

300 Brown, M.S., Ponce, C.H., Pulikanti, R., 2006. Adaptation of beef cattle to high-concentrate
301 diets: performance and ruminal metabolism. *J. Anim. Sci.* 84 Suppl, 25–33.
302 https://doi.org/10.2527/2006.8413_supplE25x.

303

304 Casali, A.O., Detmann, E., Campos, S. De, Filho, V., Carlos, J., 2009. Revista Brasileira de
305 Zootecnia Estimação de teores de componentes fibrosos em alimentos para ruminantes em
306 sacos de diferentes tecidos. *Rev. Bras. Zootec.* 38, 130–138.
307 <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009000100017>.

308

309 Chen, X.B., Gomes, M.J., 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle
310 based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of the technical details. *Int.*

- 311 Feed Resour. Unit 21. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.03.003>.
- 312
- 313 D'aurea, A. P.; Ezequiel, J. M. B.; D'aurea, E. M. O.; Fávoro, V. R.; Homem Júnior, A. C.; Van
314 Cleef, E. H. C. B.; Paschoaloto, J. R.; Almeida, M. T. C., 2017. Glicerina associada à ureia
315 na terminação de bovinos: parâmetros ruminais, digestibilidade e massa microbiana. Arq.
316 Bras. Med. Veterinária e Zootec. 69, 146–154.
317 <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-8896>.
- 318
- 319 Detmann, E.; Paulino, M. F.; Valadares Filho, S. C.; Cecon, P. R.; Zervoudakis, J. T.; Cabral,
320 L. S.; Gonçalves, L. C.; Valadares, R.F.D., 2005. Bovinos Em Pastejo Durante O Período
321 De Transição Seca/Águas: Digestibilidade Aparente E Parâmetros Do Metabolismo
322 Ruminal E Dos Compostos Nitrogenados. Rev. Bras. ... 34, 1380–1391.
323 <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982005000400036>
- 324
- 325 Detmann, E.; Souza, M.A.; Valadares Filho, S.C.; Queiroz, A.C.; Berchielli, T.T.; SALIBA,
326 E.O.S.; Cabral, L.S.; Pina, D.S.; Ladeira, M.M.; Azevedo, J.A.G., 2012. Métodos para análise
327 de alimentos - INCT - Ciência Animal. Visconde do Rio Branco: Suprema.
- 328
- 329 Fregadolli, F. L.; Zeoula, L. M.; Branco, A. F.; Prado, I. N.; Caldas Neto, S. F.; Guimarães, K.
330 C.; Kassies, M. P.; Dalponte, A. O., 2001 Efeito das fontes de amido e nitrogênio de
331 diferentes degradabilidades ruminais. 2. Ph, concentração de amônia no líquido ruminal e
332 eficiência de síntese microbiana. Revista Brasileira de Zootecnia. 870-879.
333 <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982001000300036>.
- 334

- 335 Fujihara, T.; Orskov, E. R.; Reeds, P. J.; Kyle, D. J., 1987. The effect of protein infusion on
336 urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition.
337 Journal of Agriculture Science. 7-12. <https://doi.org/10.1017/S0021859600080916>.
338
- 339 Furlan, R. L.; Macari, M.; Faria Filho, D. E., 2011. Anatomia e Fisiologia do Trato
340 Gastrintestinal. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S. G. Nutrição de
341 Ruminantes, Jaboticabal, Funep. 1-23.
342
- 343 Galyean, M.L.; M.E. Hubbert., 2014. Traditional and alternative sources of fiber - roughage
344 values, effectiveness, and concentrations in starting and finishing diets. The Professional
345 Animal Scientist, 571-584. <https://doi.org/10.15232/pas.2014-01329>.
346
- 347 González, F. H. D.; Conceição, T. R.; Siqueira, A. J. S.; La Rosa, V. L., 2000. Variações
348 sanguíneas de ureia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do
349 Sul. A hora veterinária. 59-62.
350
- 351 Hulsen, J; Aerden, D.,2016. Feeding Signals. Netherlands: Roodbont Publishers B. V. 1-80.
352
- 353 Kozloski, G. V., 2016 Digestão, absorção e metabolismo visceral. In: _____. Bioquímica dos
354 Ruminantes. Santa Maria: ufms. 1-212.
355
- 356 Madarino, R.A.; Barbosa, F.A.; Lobo, C.F.; Silva, I.S.; Oliveira, R. V.; Diogo, J. M. S.;
357 Guimarães Júnior, R., 2013. Desempenho produtivo e econômico do confinamento de bovinos

- 358 zebuínos alimentados com três dietas de alto concentrado. Arq. Bras. Med. Zootec. 1463-
359 1471. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352013000500027>.
- 360
- 361 Mertens, D.R., 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in
362 feeds with refluxing in beaker or crucibles: collaborative study. Journal of AOAC International.
363 1217-1240.
- 364
- 365 Oliveira, V. da S., Neto, J.A.S., Valença, R. de L., Silva, B.C.D. da, Santos, A.C.P. dos, 2016,
366 Carboidratos fibrosos e não fibrosos na dieta de ruminantes e seus efeitos sobre a
367 microbiota ruminal. Veterinary News, 22(2). 1-18.
368 <http://dx.doi.org/10.14393/VTv22n2a2016.32660>.
- 369
- 370 Oliveira, V. Da S., Santana Neto, J.A., Valença, R. De L., 2013. Chemical and Physiological
371 Characteristics of Rumen Fermentation in Grazing Cattle - Review. Rev. Científica
372 Eletrônica Med. Veterinária 11. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3199.0645>.
- 373
- 374 Owens, F.N., Secrist, D.S., Hill, W.J., Gill, D.R., 1998. Acidosis in cattle : a review. J. Anim.
375 Sci. 76, 275–286. <https://doi.org/https://doi.org/10.2527/1998.761275x>.
- 376
- 377 Piovesan, V.; Oliveira, V.; Gewehr, C.E., 2011. Milhos com diferentes texturas de endosperma
378 e adição de alfa-amilase na dieta de leitões. Ciência Rural, Santa Maria. 2014-2019.
379 <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782011005000134>.
- 380
- 381 Rennó, L.N., Ferreira, R., Valadares, D., Leão, M.I., De, S., Filho, C.V., Fernando, J., Cecon,

- 382 P.R., Luiz, H., Dias, C., Antônio, M., Costa, L., Oliveira, R.V. De, 2000. Estimativa da
383 Produção de Proteína Microbiana pelos Derivados de Purinas na Urina Microbial Protein
384 Production Obtained by the Urinary Purine Derivatives in Steers. *Medicina (B. Aires)*. 29,
385 1223–1234. [https://doi.org/10.1016/S0959-6380\(01\)80005-2](https://doi.org/10.1016/S0959-6380(01)80005-2)
386
- 387 Rennó, L.N., 2003. Consumo, digestibilidade total e parcial, produção microbiana, parâmetros
388 ruminais e excreções de ureia e creatinina em novilhos alimentados com dietas contendo
389 quatro níveis de ureia ou dois níveis de proteína. Viçosa MG; UFV 2003. 252p.
390 (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa.
391 <http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/11169>. (Acessado em 12 de setembro de
392 2018).
393
- 394 Turgeon, O. A.; Szasz, J. I.; Koers, W. C.; Davis, M. S.; Vander Pol, K. J., 2010. Manipulating
395 grain processing method and roughage level to improve feed efficiency in feedlot
396 cattle. *Journal of animal Science*. 284-295. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-1859>.
397
- 398 Valadares, R.F.D., Broderick, G.A., Filho, S.C.V., Clayton, M.K., 1999. Effect of Replacing
399 Alfalfa Silage with High Moisture Corn on Ruminant Protein Synthesis Estimated from
400 Excretion of Total Purine Derivatives. *J. Dairy Sci.* 82, 2686–2696.
401 [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75525](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75525).
402
- 403 Van soest P. J.; Robertson, J.; Lewis B. A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent
404 fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy*
405 *Science*. 3583-3597. [https://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).

406

407 Van soest, P. J., 1994 . Nutrition ecology of ruminants. Ithaca. Cornell University Press. 476.

408

409 Van soest, P.J.; Wine, R.H., 1968. The determination of lignin and cellulose in acid-detergent
410 fibre with permanganate. Journal of the Association of Official Analytical Chemists. 51,
411 780-785. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19691401998>. (Acessado em 12
412 de setembro de 2018).

413

414 Verbic, J.; Chen, X.B.; Macleod, N.A.; Orskov, E. R., 1990. Excretion of purine derivatives by
415 ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by
416 steers. Journal of Agricultural Science. 243-248.
417 <https://doi.org/10.1017/S0021859600072610>.

418

419 Walter, M; Silva, L. P.; Perdomo, Daiana, M. X., 2005. Amido disponível e resistente em
420 alimentos: adaptação do método da AOAC 996.11. Alimentos e Nutrição. 39-43.

421

422

Table 1. Chemical composition of ingredients on a dry matter basis used in the experimental diet for steers receiving different adaptation diets.

%	Whole grain corn	Oat hay	Pellet*
Dry matter	85	90	82
Crude protein	9	14	38
Ash	4	8	20
Neutral detergent fiber	15	68	75
Acid detergent fiber	3	35	28

*Agrocricia Engordin Grão Inteiro 38

Guarantee levels of the manufacturer (each kg):

Moisture (max.).....0 g

Phosphorus (min.).....6,000 mg

Calcium (max.).....42 g

Calcium (min.).....34 g

Ether extract (min.)....10 g

Fiber matter (max.)..210 g

Mineral matter (max.)..200 g

Crude Protein (min.).....380g

ADF (max.).....250 g

Sodium (min.).....9,700 mg

N.N.P. Equiv. in Protein (max)...173 g

Virginiamycin (min.).....150 g

Monensin (min.).....150 g

Table 2. Proportion (%) of ingredients used in diets for steers receiving different adaptation diets according to the experimental diet.

Week	Oat hay	Corn	Pellet
First	50	42,5	7,5
Second	40	51	9
Third	20	68	12
Fourth	0	85	15

Table 3. Percentage of the chemical composition of the ingredients on a dry matter basis, used in the experimental diet of each week for steers in adaptation.

%	1 st week	2 nd week	3 rd week	4 th week
Dry matter	87.28	86.73	85.64	84.55
Crude protein	13.68	13.61	13.48	13.35
Ash	7.20	7.04	6.72	6.40
Neutral detergent fiber	46.00	41.60	32.80	24.00
Acid detergent fiber	20.88	18.05	12.40	6.75

Table 4. Intake and digestibility of nutrients. Fecal pH and recovery of grains from feces of steers receiving different adaptation diets.

Item	Adaptation weeks				Week	P-value
	1 st	2 nd	3 rd	4 rd		
	Intake (g/day)					
Dry matter	7430	7570	8140	7420	0.47	0.400
Crude protein	1040 ^c	1070 ^{bc}	1120 ^b	1340 ^a	0.07	0.006
NDF	4450 ^a	3370 ^a	2970 ^b	1260 ^c	0.33	<.0001
Starch	6320	6430	6930	6390	0.41	0.449
	Digestibility (g/kg)					
Dry matter	782	779	773	738	2.69	0.469
Crude protein	809	822	722	749	1.05	0.096
NDF	668 ^a	658 ^a	552 ^b	281 ^c	2.73	0.003
Starch	905 ^a	886 ^a	848 ^{ab}	771 ^c	1.56	0.003
pH feces	6.32	6.43	6.33	6.40	0.07	0.920
	Excretion of whole grain corn (g/kg)					
Feces	112.44 ^a	136.79 ^a	232.83 ^b	382.78 ^c	12.67	0.030

SEM= Standard error of the mean. *Means followed by different letters, in the same row, are significantly different from each other by Tukey's test at 5% probability.

Table 5. Balance of nitrogen compounds in steers receiving different adaptation diets.

Item	Adaptation weeks				SEM	P-value
	1 st	2 nd	3 rd	4 rd		
	Intake (g/day)					
Nitrogen	166.86 ^b	171.45 ^b	180.41 ^b	215.80 ^a	1.47	0.006
	Excretion (g/day)					
Feces	33.62 ^b	33.19 ^b	35.62 ^b	63.51 ^a	1.69	0.007
Urine	13.80 ^c	20.74 ^{bc}	25.94 ^b	33.59 ^a	1.05	0.006
	Balance (g/day)					
Retained	133.24	138.26	144.79	152.29	2.07	0.612
Absorbed	119.44	117.52	118.85	118.7	2.24	0.632

SEM= Standard error of the mean. *Means followed by different letters, in the same row, are significantly different from each other by Tukey's test at 5% probability.

Table 6. Mean values of purine derivatives and microbial protein synthesis of steers receiving different adaptation diets.

Item	Adaptation weeks				SEM	P-value
	1 st	2 nd	3 rd	4 rd		
	mmol/L					

Allantoin	11.33 ^a	11.39 ^{ab}	10.79 ^{ab}	9.87 ^b	0.24	0.030
Uric acid	0.33	0.32	0.31	0.33	0.01	0.223
Total purine	11.66 ^a	11.72 ^a	11.11 ^a	10.21 ^b	0.24	0.031
	mmol/day					
Allantoin	91.50 ^a	91.35 ^{ab}	82.31 ^{bc}	73.75 ^c	2.69	0.001
Uric acid	2.69	2.59	2.42	2.50	0.05	0.612
Total purine	94.19 ^a	93.94 ^{ab}	84.73 ^{bc}	76.25 ^c	2.73	0.001
Abs purine	96.07 ^a	95.69 ^{ab}	84.30 ^{bc}	74.93 ^c	2.73	0.001
	g/kg de modr					
Nitrogen	69.84 ^a	69.57 ^a	61.29 ^{ab}	54.48 ^b	2.73	0.001
Crude protein	436.56 ^a	434.84 ^a	383.09 ^{ab}	340.53 ^b	17.11	0.001

Modr = Organic matter degraded in the rumen. SEM = Standard error of the mean. *Means followed by different letters, in the same row, are significantly different from each other by Tukey's test at 5% probability.

Table 7. Clearance of urea/creatinine in steers receiving different adaptation diets.

Item	Adaptation weeks				SEM	P-value Week
	1 st	2 nd	3 rd	4 rd		
	<i>Urine (mg/dL)</i>					
Urea	59.94	65.12	67.12	63.47	1.40	0.351
Creatinine	3.54 ^a	3.55 ^a	3.72 ^{ab}	3.84 ^b	0.04	0.022
Urea-N	27.93	30.34	31.27	29.58	0.65	0.351
Creatinine-N	1.31 ^a	1.32 ^a	1.38 ^{ab}	1.42 ^b	0.01	0.022
	<i>Blood (mg/dL)</i>					
Urea	65.96	68.13	67.62	62.44	1.23	0.391
Creatinine	0.75 ^a	0.22 ^b	0.16 ^b	0.23 ^b	0.07	0.003
Urea-N	30.73	30.73	31.51	29.10	0.57	0.391
Creatinine-N	0.28 ^a	0.08 ^b	0.06 ^b	0.09 ^b	0.02	0.017
	<i>Excretion (mg/kg BW)</i>					
Urea	50.82 ^b	62.68 ^a	63.70 ^a	63.04 ^a	0.23	0.008
Creatinine	28.50 ^a	28.47 ^{ab}	28.34 ^b	28.57 ^a	4.89	0.004
	<i>Clearance (24 hours)</i>					
Urea	0.77 ^b	0.92 ^a	0.94 ^a	1.00 ^a	0.07	0.006
Creatinine	58.97 ^b	179.75 ^a	197.24 ^a	153.23 ^a	21.18	0.016
	<i>Fractional excretion (%)</i>					
Urea	2.21 ^a	0.70 ^b	0.59 ^b	0.90 ^{ab}	0.25	0.039

SEM = Standard error of the mean. *Means followed by different letters, in the same row, are significantly different from each other by Tukey's test at 5% probability.

3 ANEXOS



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

Dourados-MS. 2 de março de 2016.

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado **"Avaliação de potenciais Moduladores de Fermentação Ruminal. para animais ruminantes"**, protocolo nº 23/2015. sob responsabilidade de Rafael Henrique de Tonissi e Buschinelli de Góes – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFGD) da Universidade Federal da Grande Dourados, em reunião de 11 de dezembro de 2015.

<i>Vigência do Projeto</i>	<i>10/03/2016 – 15/07/2019</i>
<i>Espécie/linhagem</i>	<i>Bos taurus taurus / Jersey</i>
<i>Nº de animais</i>	6
<i>Peso/idade</i>	300 Kg / 3 anos
<i>Sexo</i>	6 Machos
<i>Origem</i>	Setor de Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados/UFGD

Melissa Negrão Sepulveda

Melissa Negrão Sepulveda

Coordenadora CEUA

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFGD – Rua João Rosa Góes, 1761 – Vila
Progresso.

Dourados/MS. E-mail:

ceua@ufgd.edu.br

NORMAS DA REVISTA

Revista Ciência Pecuária (Livestock Science)

Para pesquisa original de artigos deve ser relato original. Os materiais não devem ter sido publicados anteriormente em outro lugar, exceto em uma forma preliminar. Eles não devem ocupar mais de 12 Páginas.

Assegure-se de que os seguintes itens estejam presentes:

Autor designado como o autor correspondente com detalhes de contato:

- O email endereço
- Endereço postal completo

Todos os arquivos necessários foram enviados:(a)

Manuscrito:

- Incluir palavras-chave
- Todas as figuras (incluem relevantes legendas)
- Todas as tabelas (incluindo títulos, descrição, notas de rodapé)
- Assegure-se de que todas as citações de figura e tabela no arquivo coincidam com os arquivos forneceu
- Indique claramente se a cor deve ser usada para qualquer *Imprimir Arquivos Gráficos Resumos / Destaques* (quando aplicável) *Arquivos Suplementares*(onde aplicável)

Outras considerações

- O manuscrito foi 'verificado ortograficamente' e ' gramática verificado'
- Todas as referências mencionadas na Lista de Referência são citadas no texto e vice-versa.

- Permissão foi obtida para uso de material protegido por direitos autorais de outras fontes (incluindo a Internet)
- Uma declaração de interesses conflitantes é fornecida, mesmo que os autores não tenham interesses conflitantes em declarar
- As políticas de diário detalhadas neste guia foram revisado
- Sugestões de árbitros e detalhes de contato fornecidos, com base na revista requisitos

Estudos em humanos e animais

Todos os experimentos com animais devem seguir as diretrizes da ARRIVE e devem ser realizada de acordo com o Reino Unido Animais (Scientific Procedures) Artigo de 1986 e as orientações associadas. UE Diretiva 2010/63 / EU para experimentos com animais, ou o National Institutes of Health - Guia para o cuidado e uso de animais de laboratório (NIH Publications No. 8023, revisado em 1978) e os autores devem indicar claramente no manuscrito que tais diretrizes foram seguido. O sexo dos animais deve ser indicado. Crueldade em animal não aceitável para Editores da Ciência Pecuária.

Declaração de interesse

Todos os autores devem divulgar quaisquer relações financeiras e pessoais com outras pessoas ou organizações que possam influenciar de forma inadequada (enviesar) o seu trabalho. Exemplos de potenciais interesses concorrentes incluem emprego, consultorias, propriedade de ações, honoraria, testemunho de perito pago, pedidos / registros de patentes e subsídios ou outro financiamento. Os autores devem divulgar qualquer interesse em dois lugares: 1. Uma declaração sumária de declaração de interesse no arquivo da página de título (se duplo-cego) ou o manuscrito Arquivo).

2. Divulgações detalhadas como parte de um formulário separado de Declaração de Interesse que faz parte dos registros oficiais.

Uso de linguagem inclusiva

A linguagem inclusiva reconhece a diversidade, transmite respeito a todas as pessoas, é sensível às diferenças e promove a igualdade de oportunidades.

Mudanças na autoria

Espera-se que os autores considerem cuidadosamente a lista e a ordem dos autores **antes de** submeter seu manuscrito e forneçam a lista definitiva de autores no momento da submissão original. Qualquer adição, exclusão ou rearranjo de nomes de autores na lista de autoria deve ser feita somente **antes** a manuscrito tem fui aceitaram e em mim E se aprovado por Diário Editor. Para pedido tal mudança, o Editor deve receber o seguinte do **autor correspondente**: (a) a razão para a mudança na lista de autores e (b) confirmação escrita (e-mail, carta) de todos os autores que eles concordam com a adição, remoção ou rearranjo. No caso de adição ou remoção de autores, isso inclui a confirmação do autor sendo adicionado ou removido.

Direito autoral

Após aceitação do artigo, um e-mail será enviado ao autor correspondente confirmando o recebimento do manuscrito juntamente com o formulário 'Journal Publishing Agreement' ou um link para a versão on-line deste documento.

Para artigos de acesso aberto em ouro: Após a aceitação de um artigo, os autores serão solicitados a preencher um "Contrato de Licença Exclusivo". A reutilização autorizada de terceiros de artigos de acesso aberto em ouro é determinada pela escolha do autor da licença de usuário.

Direitos autorais

Como autor, você (ou seu empregador ou instituição) tem certos direitos para reutilizar seu trabalho.

Papel da fonte de financiamento

Você é solicitado a identificar quem forneceu apoio financeiro para a condução da pesquisa e / ou preparação do artigo e para brevemente descrever a Função do patrocinador(s).

Submissão

O sistema de submissão on-line o orienta passo a passo no processo de inserir os detalhes do seu artigo e fazer o upload dos seus arquivos. O sistema converte seus arquivos de artigo em um único arquivo PDF usado no processo de revisão por pares. Os arquivos editáveis (por exemplo, Word, LaTeX) são necessários para compor seu artigo para publicação final. Toda a correspondência, incluindo a notificação da decisão do Editor e os pedidos de revisão, é enviada por e-mail.

Revisão por pares

Esta revista opera um único processo de revisão cega. Todas as contribuições serão inicialmente avaliadas pelo editor para adequação ao cargo. Os documentos considerados adequados, normalmente são avaliados por dois editores da área.

Estrutura do artigo

Os manuscritos devem ter linhas numeradas, com margens amplas e espaçamento duplo, ou seja, também para resumos, notas de rodapé e referências. Todas as páginas do manuscrito, incluindo a página de título, referências, tabelas, etc., devem ser numeradas.

Os manuscritos em geral devem ser organizados na seguinte ordem:

- O título deve ser claro, descritivo e não muito longo
- Resumo
- Palavras-chave (indexação termos)
- Introdução
- Material estudado, descrições de área, métodos, técnicas
- Resultados
- Discussão
- Conclusão
- Reconhecimento e qualquer informação adicional sobre bolsas de pesquisa, e assim em
- Referências
- Figura legendas
- Figuras (arquivos separados)
- Tabelas (arquivos separados)

Arquivos PDF para texto e tabelas não podem ser usados para propósitos de produção. Linhas e números não são necessários em páginas com tabelas ou figuras.

Informações essenciais da página de título

- **Título.** Conciso e informativo. Títulos são frequentemente usados em sistemas de recuperação de informações. Evite abreviações e fórmulas onde for possível.
- **Nomes e afiliações dos autores**

Por favor, indique claramente o(s) nome(s) e nome(s) de família de cada autor e verifique se todos os nomes estão escritos com precisão. Você pode adicionar seu nome entre parênteses em seu próprio script por trás da transliteração em inglês. Apresente a afiliação dos autores e

os endereços (onde o trabalho real foi feito) abaixo dos nomes. Indique todas as afiliações com uma letra em sobrescrito minúscula imediatamente após o nome do autor e em frente ao endereço apropriado. Forneça o endereço postal completo de cada afiliação, incluindo o nome do país e, se disponível, o endereço de e-mail de cada autor.

- **Correspondente autor**

Responsável por correspondência de todos os estágios do arbitragem publicação, e pós-publicação. Como responsabilidade inclui responder futuras consultas sobre Metodologia e Materiais. **Assegure-se de que o endereço de e-mail seja fornecido e que os detalhes de contato sejam mantidos atualizados autor.**

Resumo

Um resumo conciso e factual é necessário. O resumo deve indicar brevemente o propósito da pesquisa, a direção resultados e principais conclusões. Resumos são frequentemente apresentados separadamente do artigo, por isso deve ser capaz de ficar sozinho. Por esta razão, as referências devem ser evitadas, mas se essenciais, então cite o autor (es) e anos. Além disso, não padronizado ou incomum abreviaturas devem ser evitados, mas se essenciais devem ser definidos em sua primeira menção no em si.

O resumo não deve ter mais de 400 palavras.

Palavras-chave

Imediatamente após o resumo, forneça no máximo 6 palavras-chave, usando a magia americana e evitando termos gerais e plurais e vários conceitos (evite, por exemplo, 'e', 'de').

Formatação de fontes de financiamento

Relacione as fontes de financiamento desta forma padrão para facilitar a conformidade com os requisitos do financiador:

Financiamento: Este trabalho foi apoiado pelos Institutos Nacionais de Saúde [grant numbers xxxx,

yyyy]; a Conta E Melinda Portões Fundação, Seattle, WA [conceder número zzzz]; e a Unidos Estados Institutos de Paz [número de concessão aaaa].

Quando o financiamento for proveniente de uma bolsa em bloco ou de outros recursos disponíveis para uma universidade, faculdade ou outra instituição de pesquisa, envie o nome do instituto ou organização que forneceu o financiamento.

Se nenhum financiamento tiver sido fornecido para a pesquisa, inclua a seguinte frase:

Esta pesquisa não recebeu nenhuma concessão específica de agências de fomento nos setores público, comercial ou sem fins lucrativos.

Nomenclatura e unidades

Siga as regras e convenções aceitas internacionalmente: use o sistema internacional de unidades (SI).

Todos biótica (cultivo, plantas, insetos pássaros mamíferos etc) devem estar identificado por seus nomes científico quando o termo inglês é usado pela primeira vez, com a exceção de animais domésticos comuns.

Fórmulas matemáticas

Enviar equações matemáticas como texto editável e não como imagens. Apresentar fórmulas simples de acordo com o texto normal sempre que possível e usar o solidus (/) em vez de uma linha horizontal para pequenas frações termos, por exemplo, X/Y Em princípio, variáveis está para estar apresentado em itálico. Poderes do e está muitas vezes mais convenientemente denotado por exp. Numere consecutivamente as equações que devem ser exibidas separadamente do texto (se mencionadas explicitamente no texto).

Recomenda-se o uso de poderes fracionários em vez de sinais radiculares. Os poderes de e são frequentemente mais convenientemente denotados por exp.

Níveis de significância estatística que podem ser mencionados sem maiores explicações são * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ e *** $P < 0.001$.

A repetição de fórmulas químicas no texto deve ser evitada sempre que razoavelmente possível; em vez disso, o nome do composto deve ser dado na íntegra.

Notas de rodapé

Notas de rodapé devem ser usadas com moderação. Numere-os consecutivamente ao longo do artigo. Não inclua notas de rodapé na Referência Lista.

- Certifique-se de usar as letras e tamanhos uniformes de sua obra original.
- Incorporar as fontes usadas se o aplicativo fornecer opção.
- Procure usar as seguintes fontes em suas ilustrações: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol ou use fontes semelhantes.
- Numere as ilustrações de acordo com sua sequência no texto.
- Use uma convenção de nomenclatura lógica para seu trabalho artístico arquivos.
- Forneça legendas para ilustrações separadamente.
- Dimensione as ilustrações perto das dimensões desejadas da publicação versão.

- Submeta cada ilustração como um separado Arquivo.

Por favor não:

- Fornecer arquivos otimizados para uso na tela (por exemplo. GIF. BMP. PICT. WPG); estes normalmente têm um baixo número de pixels e limite de conjunto de cores;
- Forneça arquivos muito baixas resoluções;
- Envie gráficos desproporcionalmente grandes para o conteúdo.

Arte de cor

Certifique-se de que os arquivos de ilustrações estejam em um formato aceitável (arquivos TIFF (ou JPEG). EPS (ou PDF) ou MS Office) e com a resolução correta. Se, juntamente com o artigo aceito, você enviar valores em cores utilizáveis, a Elsevier garantirá, sem custo adicional, que esses números aparecerão em cores on-line (por exemplo, ScienceDirect e outros sites) independentemente de essas ilustrações estarem ou não reproduzidas, cor na versão impressa. **Para reprodução em cores impressa, você receberá informações sobre os custos da Elsevier após o recebimento do artigo aceito.** Por favor, indique sua preferência por cor: impressa ou on-line.

Por favor, envie tabelas como texto editável e não como imagens. As tabelas podem ser colocadas ao lado do texto relevante no artigo ou em páginas separadas no final. Numere as tabelas consecutivamente de acordo com sua aparência no texto e coloque quaisquer notas de tabela abaixo do corpo da tabela. Seja poupado no uso de tabelas e garanta que os dados apresentados neles não dupliquem os resultados descritos em outra parte do artigo. Por favor, evite usar regras verticais e sombreamento nas células da tabela.

Referências

Referências relativas a dados não publicados e "comunicações pessoais" não devem ser citadas na lista de referências, mas podem ser mencionadas no texto.

Dados de referências devem incluir os seguintes elementos: nome (s) do autor, título do conjunto de dados, repositório de dados, versão (quando disponível) ano e identificador persistente global.

Adicione [dataset] imediatamente antes da referência para que possamos identificar corretamente isto com referências, o [dataset] identificador vai não aparecer em seu artigo publicado.

Estilo de referência

Texto: Todas as citações no texto devem se referir a:

- 1 Autor único: o nome do autor (sem iniciais, a menos que haja ambiguidade) eo ano de publicação;
- 2 Dois autores: os nomes de ambos os autores e o ano de publicação;
- 3 Três ou mais autores: nome do primeiro autor seguido de "et al." e o ano da publicação. As citações podem ser feitas diretamente (ou entre parênteses). Grupos de referências podem ser listados primeiro alfabeticamente, depois cronologicamente ou vice-versa.

Exemplos: 'como demonstrado (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan e Jones, 1999). Ou, como demonstrado (Jones, 1999; Allan, 2000)... Kramer et al. (2010) mostraram recentemente...'

Lista: As referências devem ser organizadas primeiras em ordem alfabética, depois ordenadas cronologicamente, se necessário. Mais do que 1 referência de a mesmo autor (es) em a mesmo ano deve estar identificado pelas letras «a», «b», «c», etc., colocadas após o ano de publicação.

Exemplos:

Referência a uma publicação de periódico:

Van der Geer, J., Hanraads, JAJ, Lupton, RA. 2010. A arte de escrever um artigo científico. J. Sci. Comum. 163. 51-59. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Referência a uma publicação de periódico com um número de artigo:

Van der Geer, J., Hanraads, JAJ, Lupton, RA. 2018. A arte de escrever um artigo científico. Heliyon 19. e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Referência a um livro:

Strunk Jr., W., White, EB. 2000. Os Elementos do Estilo, quarta ed. Longman, Nova York.

Referência a um capítulo de um livro editado:

Mettam GR, Adams, LIBRA. 2009 Como para preparar o eletrônico versão do seu artigo, em: Jones, BS, Smith, RZ (Eds.). Introdução à Era Eletrônica. E-Publishing Inc., Nova Iorque. pp. 281–304.

Referência a um site:

Cancer Research UK. 1975. Relatórios de estatísticas de câncer para o Reino Unido. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> (acessado em 13 de março de 2003).

Referência a um conjunto de dados:

[conjunto de dados] Oguro. M.. Imahiro. S.. Saito. S.. Nakashizuka. T.. 2015. Dados de mortalidade para a doença de murchar japonesa e composições florestais circundantes . Dados Mendeley. v1. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Fonte de abreviaturas do diário

Os nomes das revistas devem ser abreviados de acordo com a Lista de Título Word abreviações.

Visualização de dados

Inclua visualizações interativas de dados em sua publicação e permita que seus leitores interajam e se envolvam mais de perto com sua pesquisa.

Dados de pesquisa

Esta revista encoraja e permite que você compartilhe dados que suportam sua publicação de pesquisa quando apropriado, e permite que você interligue ele de dados com seu artigo publicado. Pesquisa os dados referem-se aos resultados das observações ou experimentações que validam os resultados da pesquisa.

APÓS A ACEITAÇÃO

Correção de prova online

Os autores correspondentes receberão um e-mail com um link para o nosso sistema de provas on-line, permitindo a anotação e correção de provas on-line. O ambiente é semelhante ao MS Word: além de editar texto, você também pode comentar sobre figuras / tabelas e responder perguntas do Editor de Cópias. A revisão baseada na Web fornece um processo mais rápido e menos propenso a erros, permitindo que você digite diretamente suas correções, eliminando a possível introdução de erros. Faremos todo o possível para publicar o seu artigo com rapidez e precisão.

Alterações significativas no artigo aceito para publicação somente serão consideradas com permissão do Editor. É importante garantir que todas as correções sejam enviadas de volta para nós em uma comunicação. Verifique cuidadosamente antes de responder, pois a inclusão de quaisquer correções subsequentes não pode ser garantida. A revisão é apenas sua responsabilidade.

