

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**Inclusão de extrato de orégano (*Origanum vulgare*) na dieta e o
comportamento ingestivo e social de novilhas**

**Dejani Maíra Panazzolo
Zootecnista (UFSM/Cesnors)**

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Área de Concentração Produção Animal
(Nutrição e Alimentação de Ruminantes)

**Porto Alegre (RS), Brasil
Março, 2015**

CIP - Catalogação na Publicação

Panazzolo, Dejadi

Inclusão de extrato de orégano (*Origanum vulgare*) na dieta e o comportamento ingestivo e social de novilhas / Dejadi Panazzolo. -- 2015.

84 f.

Orientadora: Vivian Fischer.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. comportamento animal. 2. óleos essenciais. 3. consumo. 4. carvacrol. 5. novilhas Holandês. I. Fischer, Vivian, orient. II. Título.

DEJANI MAIRA PANAZZOLO
Zootecnista

DISSERTAÇÃO

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

MESTRA EM ZOOTECNIA

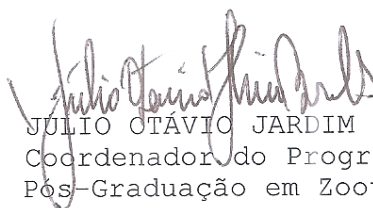
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Faculdade de Agronomia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 27.03.2015
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 03.06.2015
Por



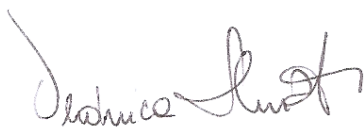
VIVIAN FISCHER
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientadora



JULIO OTÁVIO JARDIM BARCELLOS
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia



CESAR HENRIQUE ESPÍRITO CANDAL POLI
PPG ZOOTECNIA-UFRGS



VERÔNICA SCHMIDT
UFRGS



MARCELO TEMPEL STUMPF
FURG - São Lourenço/RS



PEDRO ALBERTO SELBACH
Diretor da Faculdade de Agronomia

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar a Deus pelo dom da vida, e vida saudável.

Ao meu pai e minha mãe, Ademar e Celda pela educação e respeito, principalmente à minha mãe sempre presente mesmo longe.

À pessoa mais que merecedora desta conquista, saiba que sem o seu apoio nada seria possível, ao meu eterno namorado Marcel Passos.

À minha família, em nome de minhas irmãs Deise e Daniela pelo apoio físico e psicológico de toda vida.

À Professora Doutora Vivian Fischer, que mais do que orientadora, uma amiga cheia de conselhos, ensinamentos e paciência.

Aos queridos colegas do grupo de estudos NUPLAC e também do GSR.

Às amigas conquistadas durante o experimento, que se prolonguem por toda a vida.

Ao CNPq pela bolsa oferecida e à UFRGS pelo ensino gratuito e de qualidade.

Obrigada a todos!

Inclusão de extrato de orégano (*Origanum vulgare*) na dieta e o comportamento ingestivo e social de novilhas¹

Autora: Dejeni Maíra Panazzolo

Orientadora: Prof. Dra. Vivian Fischer

RESUMO

Estudos revelam que o extrato de orégano possui muitas funções na fisiologia animal. Resultados positivos de desempenho e produção foram encontrados em aves e suínos. Em ruminantes, alguns estudos foram conduzidos de forma a avaliar seus efeitos no rúmen, mas são inexistentes os que abordam seu efeito sobre o comportamento animal. No extrato de orégano, há predominância dos óleos essenciais carvacrol e timol. Este estudo objetivou avaliar as modificações no consumo e no comportamento ingestivo e social de novilhas recebendo diferentes doses de extrato de orégano (EO) na dieta. Foram utilizadas 34 novilhas holandesas mantidas em pastejo, com idade de $18,4 \pm 4,2$ meses e peso $424,2 \pm 94,4$ Kg, distribuídos em quatro tratamentos: C = controle - sem adição do extrato de orégano; EO 2,5 = 2,5 gramas; EO 5 = 5,0 gramas e EO 7,5 = 7,5 gramas/dia de extrato de orégano. O experimento teve duração de 77 dias, sendo os primeiros 21 de adaptação e constou de avaliações comportamentais focais feitas visualmente em um período de 8 horas, das 10:00 até às 18:00 horas (GMT -3:00). Os valores de consumo e as variáveis do comportamento ingestivo e mudanças posturais foram submetidas à análise de variância e regressão (PROC MIXED e PROC REG), adotou-se o nível 5% de significância. Consideraram-se os efeitos de dia, tratamento, interação tratamento e dia, as medidas realizadas no período pré-experimental foram utilizadas como covariáveis. As variáveis do comportamento social foram transformadas em respostas binárias e submetidas à análise logística (PROC LOG) pelo SAS Enterprise Guide 5.1. Não houve alteração no consumo e no comportamento ingestivo dos animais. Houve interação tratamento x dia para tempo gasto em decúbito, havendo um aumento linear no 46º dia após o início da suplementação. A chance de ocorrência de eventos de dominância aumentou em 1,12 vezes para cada 2,5 gramas de extrato de orégano adicionado à dieta ($P=0,0496$), enquanto a chance de ocorrência de eventos de submissão não foi alterada. A inclusão de até 7,5 gramas/dia de extrato de orégano não altera o consumo e comportamento ingestivo, porém aumenta os eventos de dominância e pode aumentar o tempo em decúbito de novilhas da raça Holandesa.

Palavras-chave: comportamento animal, óleos essenciais, dominância, carvacrol, consumo, novilhas Holandês.

¹ Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (84 p) Março, 2015.

Inclusion of oregano (*Origanum vulgare*) in the diet and the ingestive and social behavior in heifers¹

Author: Dejeni Maíra Panazzolo
Adviser: Prof. Dra. Vivian Fischer

ABSTRACT

Oregano extract has many functions in animal's physiology. Positive results on performance and production were found in poultry and swine. In ruminants, studies were conducted to evaluate the effects on the rumen metabolism, but few have addressed the effect on animal behavior. In the oregano extract, carvacrol and timol essential oils are prevalent. This study aimed to evaluate changes in ingestive and social behavior in heifers receiving oregano extract (OE) in the diet. Thirty-four Holstein heifers kept in grazing, aged between 18.4 ± 4.2 months and with 424.2 ± 94.4 kg BW were distributed into four treatments: C = control - without addition of oregano extract; OE 2.5 = 2.5 grams; 5 OE = 5.0 grams and OE 7.5 = 7.5 grams/day of oregano extract. The experiment lasted 77 days, with 21 days of adaptation. Behavior evaluation was performed through visual and focal observations of the animals during 8 hours for the day, from 10:00 to 18:00 h (GMT -3:00). Data about intake and ingestive behavior and change in posture were submitted to analysis of variance and regression (PROC MIXED e PROC REG), significance was settled at 0.05. Testing the effects of day, treatment, interaction between treatment and day, and the pre experimental measurements were used for adjustment by covariance. The variables of social behavior were transformed into binary answers and submitted to logistic regression (PROC LOGISTIC) using the SAS Enterprise Guide 5.1. No differences in the feed intake and ingestive behavior of the heifers were detected between treatments. A significant interaction between treatment and day for time spent lying was detected. On the 46^o day after the beginning of OE supplementation, time spent lying increased with OE addition into the diet. The risk of occurrence of dominance events increased by 1.12 times for each 2.5 grams of the oregano extract added in the diet ($P=0.0496$), while OE did not change the risk of occurrence of submission events. Inclusion of up to 7.5 grams/day of oregano extract does not change feed intake and ingestive behavior, however increases the chance of occurrence of dominance events and may increase the time spent lying of Holstein heifers.

Keywords: animal behavior, essential oil, dominance, carvacrol, feed intake, Holstein heifers.

¹ Master of Science Dissertation in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (84 p.) March, 2015.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	11
1. INTRODUÇÃO GERAL	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 Utilização de fitoquímicos na produção animal	13
2.2 Influência dos fitoquímicos sobre o consumo e comportamento animal.	14
2.3 Divisões das classes de fitoquímicos.....	15
2.3.1 Flavonoides	15
2.3.2 Saponinas.....	16
2.3.3 Taninos.....	16
2.3.4 Terpenos	17
2.3.5 Óleos essenciais.....	17
2.4 Extrato de orégano	19
2.4.1 Carvacrol	21
3. HIPÓTESE E OBJETIVOS.....	23
CAPÍTULO II	24
Extrato de orégano (<i>Origanum vulgare</i>) na dieta não altera o consumo e comportamento ingestivo, mas aumenta dominância de novilhas	25
Resumo	25
Introdução.....	28
Material e métodos	29
Delineamento experimental e análise estatística	34
Resultados.....	36
Discussão	38
Conclusão.....	41
Referências Bibliográficas	41
CAPÍTULO III	45
4.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
4.2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
4.3 APÊNDICES	53
4.4 VITA	84

RELAÇÃO DE TABELAS

Tabela 1 Composição químico-bromatológica dos alimentos da dieta experimental.....	31
Tabela 2 Descrição das atividades observadas no etograma.	33
Tabela 3 Número de unidades amostrais, média e desvio padrão de peso e idade	35
Tabela 4 Média de consumo de matéria seca total, peso corporal e percentual de peso vivo para cada tratamento.	36
Tabela 5 Nível de significância dos tratamentos (Trat), Interação tratamento x dia (TxD), covariáveis (COV) e médias das variáveis de comportamento ingestivo e mudanças posturais.	37
Tabela 6 Equações de regressão e coeficiente de variação (R ²) das variáveis de comportamento ingestivo e mudanças posturais.	37
Tabela 7 Valores médios de temperatura, umidade relativa, Índice de temperatura e umidade (ITU) e volume de chuva durante os dias de avaliação de comportamento.	38

RELAÇÃO DE FIGURAS

Figura 1 Esquema das atividades desenvolvidas ao longo do experimento. ... 32

LISTA DE ABREVIATURAS

AChE	Acetilcolinesterase
AGV	Ácidos Graxos Voláteis
BHE	Barreira Hemato-encefálica
CA	Corno de Amon
CA1	Corno de Amon – Sub-região 1
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CH ₄	Gás metano
DA	Dopamina
ECS	Escore de Células Somáticas
EO	Extrato de Orégano
ITU	Índice de Temperatura e Umidade
LTP	Long Term Potentiation
N	Nitrogênio
NH ₃ – N	Nitrogênio Amoniacal
SNC	Sistema Nervoso Central
5-HT	Serotonina

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO GERAL

A formação e composição do rebanho leiteiro estão intimamente ligadas ao número de novilhas de reposição, que quando insuficiente leva à redução temporária do rebanho leiteiro e gera custo adicional ao produtor. Na maioria das propriedades produtoras de leite, um dos problemas mais frequentes é a falha na recria, pois a prática de manejo alimentar desta categoria é relativamente fácil comparada às bezerras e às vacas em lactação, sendo, no entanto, negligenciada por parte dos produtores.

Se o ganho de peso diário for baixo (menor que 0,6 kg/dia), dificilmente a novilha será inseminada na idade correta, aumentando a idade ao primeiro parto, ou pode ficar prenhe com peso abaixo do desejado e chegar ao parto com peso e condição corporal que geram reflexos negativos sobre a produção e reprodução na vida produtiva do animal. Em sistemas intensivos, as novilhas devem estar disponíveis para reposição entre 22 e 24 meses, caso contrário haverá a diminuição do rebanho e, conseqüentemente, aumento no custo fixo, representando prejuízo ao produtor.

Produtores e técnicos buscam ferramentas para incrementar e sustentar a produção, justificando a utilização de aditivos para melhorar a qualidade das dietas, juntamente com a sanidade e o desempenho dos animais. Ocorre certa contradição entre a exigência do mercado e sociedade em relação ao aumento da produção e a demanda de parte dos consumidores por produtos com baixo impacto ambiental. Além disso, o uso rotineiro de antimicrobianos na alimentação animal tem favorecido o aumento da resistência dos microrganismos, o que pode representar risco à saúde humana e animal, sendo necessário o desenvolvimento de substitutos a estes produtos.

Desde a antiguidade os extratos vegetais são utilizados na alimentação humana e animal, em virtude de propriedades relacionadas com seus compostos secundários. Dentro dos extratos herbais são encontrados compostos de natureza química, conhecidos como compostos secundários, os quais são produzidos pelos vegetais e que representam uma estratégia de defesa contra predadores. Alguns desses aditivos fitoquímicos podem desempenhar efeitos benéficos sobre algumas espécies de animais, como melhorar conversão alimentar, exercer função moduladora da microbiota intestinal, melhorar a atividade antioxidante, anti-inflamatória e antiparasitária, entre outros. Dentre estes grupos de substâncias os óleos essenciais vêm sendo estudados a fim de elucidar suas funções na fisiologia animal.

Muitos estudos sobre a utilização de óleos essenciais em ruminantes procuram esclarecer sua atuação sobre parâmetros fermentativos (através de seu mecanismo sobre a microflora ruminal). Tendo efeitos sobre a conversão alimentar, incremento da produção leiteira, redução do impacto ambiental das dietas, assim podem causar modificações das atividades comportamentais evidenciadas através de alterações fisiológicas do animal.

O orégano (*Origanum Vulgare*), juntamente com outros vegetais aromáticos, possui como compostos mais abundantes o carvacrol e o timol. Ao realizar um estudo bibliométrico na base Web of Science, dos últimos 10 anos, até maio de 2015 pesquisas realizadas com orégano somam mais de 1.273 resultados, englobando seu uso como condimento, conservante de alimentos

de origem animal, controlador de microrganismos e parasitas devido à suas propriedades antibacterianas e antifúngicas. Basicamente estas funções são atribuídas ao seu principal óleo essencial, o carvacrol, extraído por métodos laboratoriais, possui propriedades funcionais em humanos e animais, principalmente em roedores e não ruminantes, demonstrando atividade antimicrobiana, antifúngica, anti-inflamatória, antioxidante, analgésica, antitumoral e propriedades estimulantes do sistema digestivo, entre outros. Além disso, devido à suas propriedades lipofílicas, tem a capacidade de atravessar tecidos, sendo capaz de afetar os parâmetros sanguíneos e o sistema nervoso.

Foram encontradas 257 bibliografias relacionadas ao uso de orégano em animais, sendo que apenas 6 relatam resultados em ruminantes, basicamente focados no ambiente ruminal. Como o consumo de matéria seca pode influenciar no comportamento desenvolvido pelo animal, foram encontrados 17 resultados em que é avaliado consumo na alimentação animal em dietas contendo folhas de orégano, extrato de orégano e carvacrol. Geralmente os estudos utilizando orégano, se baseiam na melhora de desempenho e produção, sem avaliar modificações comportamentais em ruminantes, por isso alguns resultados obtidos em ratos e animais de pequeno porte podem basear algumas hipóteses direcionadas ao comportamento social destes animais de produção. As implicações que o uso dos compostos extraídos de plantas pode causar no comportamento ingestivo e social dos animais não estão elucidadas, existindo uma carência de trabalhos científicos sobre estes parâmetros em ruminantes.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Utilização de fitoquímicos na produção animal

As plantas possuem compostos secundários que, muitas vezes, funcionam como estratégias de defesa contra fitopatógenos, insetos e herbívoros (CHACÓN; RILEY-SALDANA; GONZÁLEZ-ESQUINCA, 2013). Do mesmo modo, esses compostos podem servir de barreira protetora no organismo dos animais de interesse zootécnico. Alguns desses compostos secundários possuem propriedades terapêuticas e implicações metabólicas nos indivíduos que os consomem, porém, suas propriedades nutracêuticas são mais esclarecidas em humanos e em animais de laboratório, começando a se estender para animais de produção, como aves e suínos (ABDEL-WARETH et al., 2012). Geralmente sua atuação é controlar espécies patogênicas no intestino desses animais, mas em ruminantes, basicamente em bovinos leiteiros, as pesquisas descrevem os efeitos dos extratos vegetais e seus compostos químicos no ambiente ruminal e em sua população microbiana, conseqüentemente promovendo alterações do desempenho animal, produção de leite e impacto ambiental, devido à diminuição da excreção de metano (CH₄) no ambiente (TEKIPPE et al., 2011; HRISTOV et al., 2013; KHIAOSA-ARD; ZEBELI, 2013)

O resultado das investigações com extratos de plantas podem ser comparados aos ionóforos, pois, em parte, sua ação e efeito se assemelham

com a monensina sódica. Além de serem compostos ditos naturais aceitos pela sociedade, podem ser justificados como alternativa para a substituição de antimicrobianos na produção animal. As plantas podem possuir mais do que um composto secundário em sua composição e em variadas concentrações, dessa forma, as ações efetivas de cada planta no organismo animal serão diferentes. Cada vez mais se observa um crescente interesse na utilização dos componentes purificados, ou seja, dos compostos químicos isolados na nutrição animal. Ao extrair os compostos das plantas, pode-se utilizá-los em estudos *in vitro* com líquido ruminal de animais fistulados. Segundo Kim et al. (2013), em estudos com vacas da raça Holandesa, após 24 horas de incubação do líquido ruminal com extratos alcoólicos de pinheiro (*Pinus densiflora*) e ginkgo (*Ginkgo biloba* L.) a população de protozoários ciliados diminuiu em até 49%, e a produção total de CH₄ foi menor quando esses extratos foram adicionados à dieta.

Pode-se utilizar a planta *in natura* com suas diferentes concentrações de compostos químicos, somente realizando a trituração do material. Para vacas da raça Holandesa com alto e moderado escore de células somáticas (ECS), uma mistura de casca de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), raízes de cúrcuma (*Curcuma longa*), folhas de alecrim (*Rosemarinus officinalis*) e botões de cravo (*Syzygium aromaticum*) foi acrescentada à dieta. Os animais receberam 185 g/dia do extrato herbal que continha 67,2 g/kg de compostos fenólicos durante 12 dias, depois de 24 dias de adaptação. A suplementação exerceu efeito positivo sobre a ingestão de alimento e formação de propionato no rúmen, melhorou desempenho e aumentou produção de leite, além de ser eficaz na redução do ECS, melhorando o estado de saúde da glândula mamária (HASHEMZADEH-CIGARI et al., 2014).

2.2 Influência dos fitoquímicos sobre o consumo e comportamento animal

A medição da quantidade de matéria seca ingerida pelo animal é uma ferramenta importante, pois possibilita conhecer a quantidade de alimento que o animal pode consumir evitando assim uma superalimentação ou subalimentação. Porém alguns fatores externos interferem na quantidade de alimento que o animal pode consumir diariamente, para isso são utilizados palatabilizantes que estimulam o consumo. Estes aditivos provêm de variadas fontes, inclusive extratos de plantas que são utilizados para estes fins.

De acordo com Lin et al. (2013), a utilização de extrato de orégano e seus óleos essenciais encapsulados promoveu melhor aceitação da dieta de ovinos, sem modificar o consumo. Corroborando com este estudo, ao fornecerem até 8 kg de feno de folhas de orégano, não foram constatadas diferenças no consumo, desempenho e características de carcaça de ovinos em crescimento (BAMPIDIS; CHRISTODOULOU; FLOROU-PANERI, 2005). Porém deve-se ter cuidado com sua forma utilização, pois devido ao seu odor os animais podem se recusar a ingerir o alimento onde o aditivo está presente

restringindo consumo (GABBI - Comunicação pessoal¹). Vacas leiteiras alimentadas com níveis crescentes de folhas de orégano (250, 500 e 750 g de folhas por dia), reduziram linearmente o consumo de matéria seca com o aumento da taxa de inclusão das folhas da dieta, sem afetar a produção de leite, sendo que a eficiência alimentar aumentou de forma linear com a taxa de inclusão de folhas de orégano na dieta (HRISTOV et al., 2013).

Modificações no consumo podem provocar alterações no comportamento ingestivo, pois a saúde do ambiente ruminal é aferida através do monitoramento do conjunto de comportamentos manifestados pelo animal. De acordo com Gao e Oba, (2014), vacas leiteiras com menor tempo de mastigação (ingestão e ruminação) mostraram-se mais tolerantes à acidose ruminal em dietas de alto grão, significando melhor estado de saúde do animal. O período gasto em ruminação tem correlação negativa com o tempo gasto em ingestão, ou seja, vacas que passaram mais tempo ruminando gastaram menos tempo ingerindo, conseqüentemente menor ingestão de matéria seca, (SCHIRMANN et al., 2012). A adição de óleos essenciais na dieta pode modificar o comportamento ingestivo (GABBI et al., 2009; TAGER; KRAUSE, 2011).

O comportamento social exibido pelos animais (como reagir com outros animais, com pessoas e ao estresse) é determinado pela: herança, reações e interações complexas dos seus sistemas nervoso e endócrino, experiências do passado e formação prévia (FOLEY et al, 1972). Segundo os mesmos autores, a dominância está correlacionada com a idade, peso e altura da cernelha, sendo lógico que os animais mais velhos, sendo maiores, tenham vantagem sobre as mais jovens e menores.

Assim, a dominância se estabelece nos rebanhos pela competição, ela é produto de interações agressivas entre os animais dentro de um mesmo grupo ao competirem por recursos. O dominante é o indivíduo que tem prioridade em qualquer competição, e os submissos são os que se submetem aos dominantes (PARANHOS DA COSTA; COSTA E SILVA, 2007).

2.3 Divisões das classes de fitoquímicos

Para compreender os efeitos dos compostos secundários das plantas na fisiologia é necessário conhecer as classes químicas e suas funções no metabolismo animal. Os metabólitos secundários das plantas são produzidos pelas rotas bioquímicas, como via do acetato, via do chiquimato, via do acetato-mevalonato, entre outros. Segundo Van Soest (1994), os componentes fitoquímicos ativos em plantas, que geralmente são utilizados na nutrição de ruminantes, são classificados em: flavonoides, saponinas, taninos, terpenos, óleos essenciais, entre outros.

2.3.1 Flavonoides

Os flavonoides são polifenóis encontrados em menor quantidade entre os compostos secundários, naturalmente presentes em maçã, uva, soja, hortaliças, ervas, chocolate, vinho e chá verde. De acordo com Bodewes et al.

¹ Dados obtidos através de comunicação informal em dezembro de 2009 (Alexandre Gabbi).

(2011) podem ser agrupados em seis grandes grupos devido a seus constituintes: flavonas, flavonóis (quercetina), flavanonas (naringenina), flavonols (catequinas), isoflavonas e antocianidinas, sendo que sua principal função é proteger dos danos induzidos pelo estresse oxidativo, possuindo importante propriedade antioxidante. Segundo Lauzon et al. (2005), em estudo *in vitro*, a suplementação com o antioxidante catequina pode inibir parcialmente ou totalmente os danos causados às células do epitélio mamário em função da inflamação decorrente da mastite.

A naringenina e a quercetina atuam no ambiente ruminal contribuindo para a redução da produção de metano sem afetar negativamente a fermentação ruminal (OSKOU EIAN; ABDULLAH; OSKOU EIAN, 2013). Tedesco et al. (2004), ao utilizarem silimarina, uma substância rica em flavonoides (76%), demonstraram que as vacas apresentaram um melhor escore de condição corporal, um pico de lactação maior e mais cedo e uma redução de distúrbios metabólicos relacionados ao parto e processo de lactação, sem efeitos negativos atribuídos a essa substância. Os flavonoides promovem processos benéficos, no entanto, a maior parte dos estudos tem sido *in vitro*, podendo haver inconsistências ou divergências nas propriedades antioxidantes *in vivo*, sendo necessário o desenvolvimento de protocolos rigorosos e válidos (BODEWES et al., 2011).

2.3.2 Saponinas

São glicosídeos que se caracterizam pela formação de espuma quando agitados com água, têm propriedades detergentes e surfactantes, sendo formados por uma parte hidrofílica e outra lipofílica. Geralmente esse composto é encontrado em erva mate, babosa, guaraná e juazeiro. Para utilização na alimentação animal, esses glicosídeos de esteroides são extraídos do tronco e raiz de uma planta conhecida como mandioca do deserto (*Yucca schidigera*). Esse substrato de elevada concentração de saponinas é tóxico aos protozoários e pode ser considerado um potente agente de defaunação no rúmen (WANG; WANG; ZHOU, 2009). Segundo o mesmo autor, apesar de sua característica detergente a saponina não interferiu no consumo e digestibilidade dos alimentos da dieta que consistiu em uma proporção de 75:25 de volumoso e concentrado, mas reduziu a emissão de metano em até 12%, associado com a menor produção de nitrogênio amoniacal ($\text{NH}_3 - \text{N}$) e aumentou a concentração de ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen de ovelhas.

2.3.3 Taninos

Os taninos são polifenóis com baixo grau de absorção pelo trato digestivo dos herbívoros e uma de suas principais características é formar complexos insolúveis e solúveis com macromoléculas de proteína, fibra e amido (VAN SOEST, 1994; HOSTE, et al. 2006). São divididos em dois grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados. De acordo com Min et al. (2003), os taninos condensados são abundantemente presentes nas forrageiras leguminosas utilizadas como pastagens para ruminantes. Também

desempenham papel importante na redução de metano (JAYANEGARA et al., 2009), controle de parasitos (ATHANASIADOU et al., 2000a; MIN et al., 2003) e na formação de complexos proteicos, reduzindo a degradação de proteína pelos microrganismos ruminais e resultando em maior quantidade de proteína verdadeira para o abomaso.

2.3.4 Terpenos

Os terpenos ou terpenóides formam uma diversificada classe de substâncias que, em sua maioria, é volátil. Segundo Bakkali et al. (2008), são classificados quanto à sua estrutura, tendo como principais os monoterpenos e sesquiterpenos, mas também podem existir diterpenos, triterpenos, tetraterpenos, hemiterpenos ou carotenoides e politerpenos, e os que contêm maior quantidade de oxigênio em sua molécula são chamados terpenóides. Quanto mais oxigênio na molécula melhor será a volatilidade do terpeno - geralmente mono e sesquiterpenos contêm mais oxigênio. Segundo Castro et al. (2004), estes terpenos são os encontrados com maior frequência nos óleos essenciais e quando se ligam a outras substâncias, formam óleos essenciais específicos.

Os componentes voláteis podem ser facilmente inalados, passam para o sangue e são transferidos para o leite. Segundo Viallon et al. (2000), após 15 minutos da exposição as vacas, que inalaram terpenóides derivados da planta aromática milefólio (*Achillea millefolium*), apresentaram essas substâncias aromáticas no leite; quando ingerido, foram necessários de 30 à 60 minutos para detectá-las no leite. Esse processo de transferência é rápido e pode causar *off flavor* (sabor anormal) no leite e derivados, mas não apresenta efeito duradouro. Segundo Lejonklev et al. (2013), corroborando com estudo anterior, os terpenos presentes nos óleos essenciais são transferidos para o leite quando as vacas os recebem via gastrointestinal ou respiratória logo depois da exposição, porém, seu efeito é imediato, desaparecendo no dia seguinte. A maioria desses fitoquímicos possui fórmulas e funções biológicas semelhantes, no entanto, a presente revisão visa detalhar aspectos relativos aos óleos essenciais, com destaque aquele presente no extrato de orégano.

2.3.5 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são formados por 90% de monoterpenos, sendo o restante constituído por compostos aromáticos. Tem como particularidade o odor pungente, o que pode atrair insetos, facilitando a dispersão do pólen e sementes, ou repelir os indesejáveis. São lipídeos solúveis em solventes orgânicos, geralmente menos densos que a água. Ademais, são compostos líquidos, voláteis, límpidos e raramente coloridos. Podem ser sintetizados por todos os órgãos das plantas: botões, flores, folhas, caules, ramos, sementes, frutas, raízes, madeira ou casca, e são armazenados em células secretoras, cavidades, canais, células epidérmicas ou tricomas glandulares (BAKKALI et al., 2008).

Os óleos essenciais podem promover efeitos diferentes de acordo com seu tipo e concentração. Segundo Bakkali et al. (2008), a composição

química do óleo essencial difere não somente no número de moléculas, mas também no tipo de moléculas extraídas, dependendo do tipo de extração usada, da parte da planta, das condições edáficas e climáticas. São conhecidos aproximadamente 3.000 óleos essenciais, dos quais cerca de 300 são comercialmente importantes em especial para as indústrias farmacêutica, agrônômica, alimentícia, sanitária, cosmética e perfumaria, com atividades antibacterianas, antifúngicas e inseticidas. São compostos naturais extremamente complexos podendo conter de 20 a 60 componentes em diferentes concentrações, geralmente com dois ou três componentes principais e apenas traços dos demais.

Existem vários métodos para a extração de óleos essenciais: por meio de dióxido de carbono, através de baixa temperatura e alta pressão, por extração com solventes e por destilação a vapor quente ou água fervente. Os compostos voláteis precisam ser armazenados em recipientes herméticos e no escuro, para evitar alterações na composição. A destilação a vapor é o método mais comum para extração de óleo essencial em escala comercial (BURT, 2004).

Na produção animal podem ser citadas algumas plantas utilizadas e seus principais óleos essenciais extraídos de diversas partes da planta, como:

- Folhas: Canela (*Cinnamomum zeylanicum*) - eugenol e cinamaldeído, Tomilho (*Thymus vulgaris*) – timol, Orégano (*Origanum vulgare*) - carvacrol e timol, Eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) – citronelal;
- Frutas: Laranja (*Citrus sinensis*) e Bergamota (*Citrus bergamia*) – limoneno e acetato de linalilo, Pimenta-preta (*Piper nigrum*) – sabineno e limoneno; Pimenta-vermelha e Pimentão (*Capsicum annum*) – capsaicina e capsicum;
- Flores: Cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*) – eugenol, Orquídea (*Vanilla planifolia*) - vanilina;
- Ramos: Chá (*Melaleuca alternifolia*) – terpineno;
- Raízes: Alho (*Allium sativum*) – alina e alicina;
- Planta inteira: Alecrim (*Rosemarinus officinalis*) – cineole e canfora; entre outros (CALSAMIGLIA et al., 2007; BENCHAAAR et al., 2008; HART et al., 2008; CHAVES et al., 2012)

Dada à natureza lipofílica dos óleos essenciais, eles se acumulam na bicamada lipídica alterando a permeabilidade da membrana e o transporte de íons, além de interagir com as proteínas de membrana, limitando o crescimento ou causando morte celular das bactérias (BENCHAAAR; GREATHEAD, 2011). Da mesma forma que os ionóforos, a ação anti-metanogênica ocorre devido à defaunação da população de protozoários ciliados os quais são associados às arqueobactérias, reduzindo a produção e emissão de metano (GUAN et al., 2006).

A inclusão de óleos essenciais na dieta pode modificar o comportamento ingestivo. Tager & Krause, (2011), ao incluírem *Capsicum*, e Gabbi et al. (2009), ao utilizarem uma mistura comercial à base de óleos essenciais (alho, cebola, linhaça, canela e cravo-da-índia), observaram redução do tempo de ingestão do alimento e atribuíram o aumento da taxa de

ingestão ao efeito palatilizante do aditivo, devido à presença de componentes voláteis inalados durante a ingestão do alimento.

De acordo com Broughan (2002) os odores podem afetar o sistema límbico responsável pelas emoções e comportamentos sociais. Alguns odores são intrinsecamente agradáveis ou aversivos, sendo que alguns óleos essenciais podem apresentar efeito tranquilizante, pois são derivados de produtos nutricionais como laranja, limão, tomilho e lavanda.

Segundo Gabbi (Comunicação pessoal), o fornecimento diário de 2,5 g/vaca de carvacrol parcialmente encapsulado exerceu forte efeito de recusa das vacas lactantes em ingerir a dieta. Segundo Hristov et al. (2013), a suplementação com folhas de orégano diminuiu a ingestão de matéria seca, provavelmente devido à alta concentração (78%) de carvacrol, monoterpênóide com odor pungente, de forma a exercer efeito aversivo em vacas leiteiras de alta produção.

Também é conhecido que os óleos essenciais podem agir na fisiologia animal, semelhantes às drogas sedativas (MELO et al., 2010). Segundo Gomes et al. (2010), a administração de cineole, também conhecido como eucaliptol, apresentou efeito ansiolítico (reduzidor dos sintomas da ansiedade e tensão) em ratos, podendo ter efeito depressor geral sobre o sistema nervoso central (SNC), sem haver efeito significativo sobre a coordenação motora dos animais.

São necessários estudos sobre a metabolizabilidade dos óleos essenciais para melhor compreender sua função na fisiologia. Segundo Nurmi et al. (2006), o estudo da absorção e metabolismo desses compostos é um desafio, pois certo número de componentes são identificados antes da ingestão e em seguida são convertidos em uma variedade de metabólitos no organismo.

2.4 Extrato de orégano

Orégano é um termo erroneamente utilizado para designar vários gêneros da família Lamiaceae em que a principal característica é conter óleos essenciais como carvacrol e timol. Além do gênero *Origanum*, outros exemplos dessa família como *Mentha*, *Lavandula*, *Ocimum*, *Rosmarinus*, *Salvia* e *Thymus* podem apresentar características semelhantes ao orégano. Dentro do gênero *Origanum* podem ser encontradas plantas que possuem concentrações de óleos essenciais e atividade extremamente parecidas, sendo o caso do *Origanum majorana* (manjerona), *Origanum onites* (orégano cretense), *Origanum minutiflorum* (orégano selvagem), *Origanum vulgare* (orégano comum), *Origanum syriacum* var. *bevanii*, *Origanum acutidens* (orégano ornamental), *Origanum bilgeri*, *Origanum hypericifolium*, entre outros (BASER, 2008).

A espécie *Origanum vulgare* é nativa do Mediterrâneo, largamente utilizada como condimento, e pode ser usada na forma *in natura*, com as folhas secas contendo os compostos, na forma de extrato, a qual possui somente os óleos essenciais ou o principal composto purificado, que pode ser livre ou encapsulado. O Ropadiar® é um exemplo de produto comercial desenvolvido na Holanda, composto por óleo de orégano extraído por destilação, contendo

carvacrol, timol e cimeno, sendo indicado para animais de produção como alternativa natural de substituição aos antimicrobianos (ROPAPHARM, 1995).

Muitas funções são atribuídas ao orégano, como, por exemplo, propriedades antibacterianas, antioxidantes, antifúngicas e analgésicas, mas todas dependem da forma, concentração e do método de extração utilizado. A extração de seus compostos é realizada através de destilação a vapor, mas podem ser utilizadas outras formas para remover esses compostos. De acordo com Teixeira et al. (2013) a extração dos compostos de orégano através de água quente origina forte capacidade oxidante, enquanto que do extrato etanólico apresentam propriedades antibacterianas.

Em estudos *in vitro* do ambiente ruminal, amostras dos óleos essenciais de *Lavandula latifolia*, *Ocimum basilicum* e *Origanum vulgare* demonstram potencial de reduzir a produção de metano, além de não ter efeito inibitório sobre a produção AVG e da degradabilidade da fibra em detergente neutro, porém deve-se ter cautela para validar esta viabilidade e aplicabilidade em condições *in vivo* (TEKIPPE et al., 2012). Quando as folhas de orégano foram utilizadas na alimentação de vacas de alta produção, na quantidade de 1,4% de carvacrol em 500 g/dia de feno, a produção de metano foi reduzida em cerca de 40% nas primeiras 8 horas de avaliação. Não houve modificação na fermentação ruminal, na digestibilidade aparente total dos nutrientes no trato digestivo e na produtividade do animal (TEKIPPE et al., 2011).

De forma semelhante, vacas leiteiras alimentadas com níveis crescentes de folhas de orégano (250, 500 e 750 gramas de folhas por dia), reduziram a produção de metano dentro de 8 horas após alimentação. O consumo de matéria seca diminuiu linearmente com o aumento da taxa de inclusão sem afetar a produção de leite, sendo que a eficiência alimentar aumentou de forma linear com a taxa de inclusão de folhas de orégano na dieta (HRISTOV et al., 2013).

Uma mistura de extratos de plantas (cravo, orégano, canela e limão) e seus óleos essenciais (eugenol, carvacrol, cinamaldeído e citral) encapsulados com alginato de sódio incrementou a aceitação da dieta fornecida a ovinos, diminuiu a proporção acetato:propionato, inibiu arqueobactérias e protozoários e aumentou a quantidade de proteína verdadeira que fluiu para o duodeno (LIN et al., 2013).

Independente da forma de extração e da maneira que é oferecido, o orégano é capaz de afetar o SNC. Segundo Sheibani et al. (2011) o extrato aquoso das folhas de orégano injetado via intraperitoneal em ratos melhora a indução e manutenção da potencialização de longa duração (*Long Term Potentiation* - LTP), principal mecanismo celular que baseia a aprendizagem e a memória, na área CA1, região do hipocampo chamada de Corno de Amon (CA) envolvidas na consolidação da memória, sugerindo que o consumo de orégano é útil para reduzir os distúrbios de aprendizagem. Todos os efeitos decorrentes do uso do orégano se devem aos seus óleos essenciais constituintes, sendo que, em maior quantidade, o carvacrol é o principal responsável por estas funções.

2.4.1 Carvacrol

O carvacrol é um monoterpenóide fenol naturalmente encontrado no orégano (*Origanum vulgare*), de forma molecular $C_{10}H_{14}O$, é isômero do timol e apresenta-se como um líquido de baixa toxicidade, incolor, pouco solúvel em água, de natureza pungente e odor picante. Segundo Baser (2008), o carvacrol é o principal óleo essencial que constitui plantas do gênero *Origanum*, chegando a participar com mais de 80% em algumas espécies (*Origanum majorana*, *Origanum onites* e *Origanum minutiflorum*).

A principal função do carvacrol é a atividade antimicrobiana (NOWOTARSKA et al., 2014), além de atividades inseticida, antiparasitária, anti-hepatotóxica, antioxidante e fungicida. Estudos indicam que ele possui atividades benéficas destacando funções a nível celular contribuindo para a homeostase do organismo, além de funções no SNC como inibidor da acetilcolinesterase (AChE) e antidepressivo. As propriedades benéficas incluem ações antitumorais, antimutagênicas e citotóxicas (LLANA-RUIZ-CABELLO et al., 2014), proteção hepatotóxica em fígado de ratos contra lesões que ocorrem no processo Isquemia/Reperfusão (CANBEK et al., 2008), entre outras.

Os componentes voláteis dos óleos essenciais os permitem atravessar facilmente a barreira hematoencefálica (BHE) em função do seu baixo peso molecular e lipofilicidade, sendo que essas moléculas podem se acumular no cérebro e interagir em diferentes locais do SNC demonstrando propriedades centralmente ativas (SAVELEV; OKELLO; PERRY, 2004; HOTTA et al., 2010; SOUSA, 2011; TRABACE et al., 2011), o que sugere uma possível ação modulatória no SNC dos mamíferos (PARNAS et al., 2009). Essas propriedades centralmente ativas se referem a um ponto específico do cérebro, de forma que, geralmente, uma substância demonstra essas propriedades quando é capaz de aumentar a secreção de neurotransmissores, contribuindo para atividades antidepressivas e propriedades sedativas, como é o caso de muitos medicamentos (PIRES; FREITAS; TUPINAMBÁ, 2013).

O nível do neurotransmissor acetilcolina é decisivo no desempenho cognitivo, sendo a acetilcolinesterase (AChE) a principal enzima envolvida em catalisar sua hidrólise a fim de evitar sua transmissão excessiva para o músculo e outros tecidos como o SNC, ocorrendo a doença de Alzheimer. Os sintomas dessa doença podem ser melhorados utilizando estimuladores colinérgicos ou inibidores colinesterásicos. Em testes com óleos essenciais para encontrar potentes inibidores colinesterásicos, o carvacrol foi mais eficiente do que o timol em inibir a atividade da AChE (AAZZA; LYOUSSI; MIGUEL, 2011).

Dessa forma, o carvacrol apresenta-se como potente ansiolítico e antidepressivo no tratamento aliviando os sintomas em camundongos (MELO et al., 2010), pois seu mecanismo de ação é semelhante ao de drogas sedativas, sendo provável que a atividade deste composto, com capacidade de modular o humor e processos cognitivos, envolva vários neurotransmissores no cérebro (Zotti et al., 2013). Segundo o mesmo autor, a administração de 12,5 mg/kg de carvacrol durante sete dias consecutivos causa o aumento da dopamina no córtex pré-frontal e no hipocampo e induz o aumento do nível de serotonina somente no hipocampo, evidenciando a atividade moduladora do

carvacrol em transmissões dopaminérgicas e serotoninérgicas nas duas áreas cerebrais de ratos. Por isso, esses autores sugerem que o carvacrol é uma molécula ativada no cérebro que influencia na atividade neuronal através da modulação de neurotransmissores, e se ingerida regularmente em baixas concentrações pode estimular sensação de bem-estar e reforçar efeitos positivos no animal.

A serotonina (5-HT) e a dopamina (DA) são neurotransmissores que têm papel fundamental tanto nas atividades fisiológicas básicas quanto comportamentais. Enquanto a serotonina afeta basicamente o controle do humor (GOLDEN; GILMORE, 1990), da agressão (MOLINA, et al. 1987; GOLDEN, et al. 1991), do comportamento sexual, da sensibilidade à dor e capacidade para aprender, da regulação cardiovascular, da termorregulação, da respiração, do ritmo circadiano, do ciclo vigília-sono, do apetite e da reatividade senso-motora (LUCKI, 1998), a dopamina regula processos cognitivos, emoção, tipo de aprendizagem e memória, atividade locomotora (BENINGER, 1983) e reforço positivo (aumento na atividade sináptica) (WISE, 1987). Desse modo, a desregulação destas vias de neurotransmissão implicam em alterações do humor, apetite, sono, processos cognitivos e comportamentos sexuais e emocionais (ZOTTI et al., 2013).

Estudo realizado com ratas em fase de proestro demonstrou que há alteração do comportamento em teste de natação forçada. As ratas tratadas com carvacrol (0,45g/kg) aumentaram o tempo de imobilidade (fase em desespero). Juntamente com a redução das concentrações de estradiol no plasma em fase de proestro, este constituinte natural de óleos essenciais reduziu seletivamente o conteúdo de serotonina no córtex pré-frontal e núcleo acumbens induzindo um estado de desespero em ratas (TRABACE et al., 2011).

Baseado nestas pesquisas há possibilidade de ocorrer alterações nos ruminantes visto que altera a fisiologia de roedores. É possível observar que a forma de extração, a concentração, os sinergismos dos óleos essenciais e o ciclo estral dos animais podem afetar na resposta ao tratamento. Por isso a avaliação do comportamento é uma ferramenta para analisar estas possíveis modificações. A utilização de extrato de orégano poderia deixar os animais mais calmos, da mesma forma que poderia alterar o consumo e comportamento ingestivo.

3. HIPÓTESE E OBJETIVOS

Hipótese

- A utilização de extrato de orégano pode modificar o comportamento dos animais.

Objetivo

- Avaliar o consumo e os comportamentos ingestivo e social de novilhas recebendo diferentes níveis de extrato de orégano na dieta.

CAPÍTULO II

Extrato de orégano (*Origanum vulgare*) na dieta não altera o consumo e comportamento ingestivo, mas aumenta dominância de novilhas¹

¹Artigo a ser enviado para o Journal Animal (Cambridge Online)

Extrato de orégano (*Origanum vulgare*) na dieta não altera o consumo e comportamento ingestivo, mas aumenta dominância de novilhas

D. M. Panazzolo¹, V. Fischer^{1,a}, G. J. Kolling¹, A. M. Gabbi¹ and M. B. Passos²

¹ *Departamento de Zootecnia , Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves, 7712, Bairro Agronomia, 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.*

² *Hospital Veterinário de Grandes Animais, Universidade de Brasília, Setor SRB, Galpão 4 – Granja do Torto, 70636-200, Brasília, Distrito Federal, Brasil.*

^a *Endereço atual: Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Bento Gonçalves, 7712, 91540-000, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.*

Endereço para correspondência: Vivian Fischer.

Email: vivinha.fischer@hotmail.com.

Extrato de orégano sobre comportamento de novilhas

Resumo

Estudos revelam que o extrato de orégano possui muitas funções na fisiologia animal. O uso dos óleos essenciais de orégano, predominantemente carvacrol e timol, na dieta tem demonstrado resultados positivos de desempenho e produção em aves e suínos. Em ruminantes, alguns estudos

foram conduzidos de forma a avaliar seus efeitos no rúmen, mas são inexistentes os que abordam seu efeito sobre o comportamento animal. Objetivou-se avaliar as modificações no consumo e no comportamento ingestivo e social de novilhas recebendo diferentes doses de extrato de orégano (EO) na dieta. Foram utilizadas 34 novilhas holandesas mantidas em pastejo, com idade de $18,4 \pm 4,2$ meses e peso $424,2 \pm 94,4$ Kg, distribuídos em quatro tratamentos: C = controle - sem adição do extrato de orégano; EO 2,5 = 2,5 gramas; EO 5 = 5,0 gramas; EO 7,5 = 7,5 gramas/dia de extrato de orégano. O experimento teve duração de 77 dias, sendo 21 de adaptação à rotina experimental e constou de avaliações comportamentais focais feitas visualmente em um período de 8 horas, das 10:00 até as 18:00 horas (GMT - 3:00). Os dados de consumo foram submetidos à análise de variância e as variáveis do comportamento ingestivo e posturais foram submetidas à análise de variância e de regressão (PROC MIXED e PROC REG), adotou-se o nível 5% de significância. Considerando o efeito de dia, tratamento, interação tratamento e dia, as medidas realizadas no período pré-experimental foram utilizadas como covariáveis. As variáveis do comportamento social foram transformadas em respostas binárias e submetidas à análise logística (PROC LOGISTIC) pelo SAS Enterprise Guide 5.1. Não houve alteração no consumo e comportamento ingestivo dos animais. Houve interação tratamento x dia para o tempo em decúbito, havendo um aumento linear no tempo deitada em relação às doses de extrato de orégano no 46º dia após o início da suplementação. O risco de ocorrência de eventos de dominância aumentou em 1,12 vezes para cada 2,5 gramas de extrato de orégano adicionado à dieta ($P=0,0496$),

enquanto o risco de ocorrência de comportamento de submissão não foi modificado. A inclusão de até 7,5 gramas/dia de extrato de orégano não altera o consumo e comportamento ingestivo, porém aumenta os eventos de dominância e pode aumentar o tempo em decúbito de novilhas da raça Holandesa.

Palavras-chave: comportamento animal, consumo, óleos essenciais, dominância, carvacrol.

Implicações

O extrato de orégano é usado para substituir os antimicrobianos na produção animal e em ruminantes pode modular a flora ruminal. Muitos compostos apresentam sabor e odor característicos e podem exercer influenciar a aceitabilidade do alimento, por outro lado podem também exercer efeitos sobre sistema nervoso central e sistema imune. O estudo visou contribuir para o conhecimento sobre o efeito da adição de extrato de orégano sobre o consumo e comportamento animal. Neste estudo, não houve modificação no consumo nem no comportamento ingestivo dos animais, no entanto o extrato de orégano afetou o comportamento social, aumentando os eventos de dominância das novilhas. O comportamento ingestivo e social são ferramentas utilizadas para avaliar o bem-estar dos animais de produção, servindo como indicativos de manejo dos lotes.

Introdução

A formação e composição do rebanho leiteiro estão intimamente ligadas ao número de novilhas de reposição que, quando insuficiente, leva à redução temporária do rebanho leiteiro e gera custo adicional ao produtor (SOUSA, 2009). Práticas para maximizar a recria das novilhas podem incluir o uso de fitoquímicos para melhorar aspectos relacionados à saúde, eficiência ruminal e ganho de peso. Segundo Benchaar & Greathead (2011), os extratos de plantas podem ser comparados aos ionóforos, pois em parte, sua ação e efeito se assemelham ao da monensina sódica, além de serem compostos naturais que, aceitos pela sociedade, tornando-os alternativa para a substituição aos antimicrobianos. Os estudos com óleos essenciais, derivados do orégano, em ruminantes se baseiam prioritariamente em avaliar seus efeitos no ambiente ruminal (HRISTOV et al., 2013; TEKIPPE et al., 2011), existindo carência de trabalhos que evidenciem seus efeitos no comportamento animal.

A utilização do extrato de orégano pode modificar o ambiente ruminal devido a suas ações anti-metanogênicas e defaunantes (LIN et al., 2013) com consequências sobre o consumo e comportamento ingestivo, além de atuar sobre o sistema nervoso podendo afetar comportamento social dos animais.

Cada indivíduo possui uma resposta a determinado estímulo ou substância presente no organismo, o que pode refletir na resposta comportamental. Assim, os compostos secundários das plantas, principalmente os óleos essenciais, os quais podem influenciar nas sinapses químicas, apresentam potencial para modificar a resposta do animal ao ambiente

(VENANCIO, 2006; ZOTTI et al., 2013), porém, ao conhecimento dos autores são inexistentes os estudos científicos avaliando esses parâmetros em ruminantes. Portanto, utilização de extrato de orégano poderia modificar o consumo de alimentos e comportamento dos animais. O objetivo deste estudo foi avaliar o consumo e o comportamento ingestivo e social de novilhas recebendo diferentes níveis de extrato de orégano na dieta.

Material e métodos

Local, animais e tratamentos

O experimento foi realizado de abril a junho de 2014, tendo duração de 77 dias, sendo os primeiros 21 dias de adaptação. Foi conduzido em uma propriedade particular no norte do estado do Rio Grande do Sul, no município de Independência (latitude 27°88'62" sul, longitude 54°18'46" oeste e altitude de 372 metros) e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFRGS, nº 18510. Foram utilizadas 34 novilhas da raça Holandês, com idade de $18,4 \pm 4,2$ meses e peso de $424,2 \pm 94,4$ Kg. Os animais foram distribuídos de forma aleatória a quatro tratamentos: C = controle - sem adição do extrato de orégano; EO 2,5 = 2,5 gramas; EO 5 = 5,0 gramas e EO 7,5 = 7,5 gramas de extrato de orégano. Utilizou-se o produto de marca comercial Orego Stim[®] Pó (Carvacrol 80 - 82%, Timol 2,5 - 3%, p-Cimeno 3,5 - 9% e Y-Terpineno 2,0 - 5,5%) na concentração mínima de 50 g/kg.

Composição da dieta, coleta e análise dos alimentos

As novilhas permaneceram em pastagem de tifton (*Cynodon dactylon*) e, uma vez ao dia, entre 07:30 e 9:30 h, receberam individualmente

2,5 kg do concentrado contendo as doses do aditivo (extrato de orégano). A inclusão do aditivo foi realizada imediatamente antes do fornecimento no cocho. Por volta das 10:30 cada animal recebeu aproximadamente 16 kg de silagem de milho e 2 kg de feno de gramíneas no cocho, após este período, os animais tinham livre acesso as instalações do galpão.

A dieta foi formulada para um ganho médio diário de 0,7 kg/animal/dia, em animais inicialmente com peso de 424 kg com o consumo previsto de matéria seca de 2,2 a 2,5% de peso corporal (NRC, 2001). O concentrado basal continha: 13% de milho, 36% de farelo de soja, 25% de trigoilho, 20% de casca de soja, 5% de Multinúcleo Leite Avant e 1% de sequestrante de micotoxina. O Multinúcleo Leite Avant continha monensina sódica (1.000 mg), Cálcio (Min.e Máx. 215 -240 mg) e concentrações mínimas de Fósforo (50 mg), Sódio (90 mg), Magnésio (15 mg), Enxofre(15 mg), Ferro (1.000 mg), Zinco (2.600 mg), Cobre (600 mg), Manganês (880 mg), Iodo (32 mg), Cobalto (12 mg), Selênio (16 g) e vitaminas A, D3 e E.

Uma vez por semana foram coletadas e congeladas amostras de silagem, feno, concentrado e pasto, sendo que a composição se encontra na Tabela 1. As análises bromatológicas e de digestibilidade *in vitro* dos alimentos foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e no Laboratório de Bromatologia e Nutrição de Ruminantes da Universidade Federal de Santa Maria, respectivamente.

Tabela 1 Composição químico-bromatológica dos alimentos da dieta experimental

Amostra	MS (%)	FDN (%)	PB (%)	MO (%)	DIVMS (%)	DIVMO (%)
Concentrado	88,73	30,04	25,48	90,75	93,19	95,33
Silagem	93,19	45,99	8,91	96,47	79,37	80,22
Feno	94,88	75,52	5,73	93,67	56,13	55,33
Pastagem	92,89	61,14	20,24	89,56	71,95	72,56

MS = Matéria Seca; FDN = Fibra em detergente neutro; PB = Proteína Bruta; MO = Matéria Orgânica; DIVMS = Digestibilidade *in vitro* da matéria seca; DIVMO = Digestibilidade *in vitro* da matéria orgânica.

Para avaliar consumo do 32^o ao 41^o dias foram ministrados 10 g/animal/dia de óxido crômico misturado ao concentrado, totalizando 10 dias, e do 38^o ao 42^o dias foram coletadas amostras de fezes diretamente do reto dos animais e congeladas para posterior análise. A produção fecal foi calculada dividindo-se a quantidade fornecida de cromo pela concentração de cromo (MG/kg) nas fezes. O consumo de matéria seca foi calculado dividindo-se a produção fecal pelo fator (1-digestibilidade *in vitro* da matéria seca média da dieta) (KOZLOSKI et al., 2006). São apresentados os resultados de consumo de forragem (pasto + silagem + feno), pois foram descontadas as quantidades consumidas de concentrado.

Avaliação comportamental e variáveis observadas

O período pré-experimental iniciou no dia -21, de acordo com a Figura 1, onde os animais foram adaptados à rotina experimental e no dia 1 iniciou-se o fornecimento do fitoquímico. Nos dias -12, -4, 1, 7, 14, 30 e 46 do experimento foram feitas observações comportamentais através de etograma.

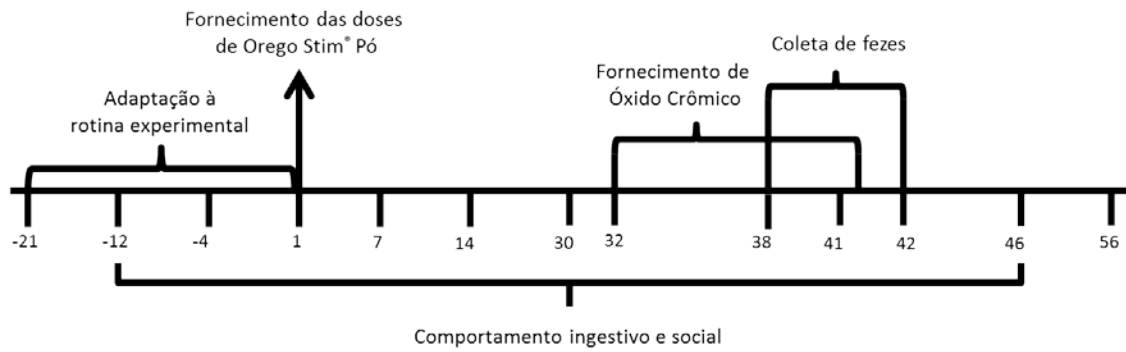


Figura 1 Esquema das atividades desenvolvidas ao longo do experimento.

As avaliações comportamentais consistiram na observação visual focal das atividades exercidas pelos animais dentro do galpão e na pastagem, as variáveis foram correspondentes ao comportamento ingestivo, modificações posturais e comportamento social.

As atividades, de ruminação, pastejo, estação, decúbito, ócio e permanência no galpão, foram registradas a cada 10 minutos (SILVA et al., 2008) e as atividades pontuais ingestão de água, visita ao cocho, eventos de dominância e submissão foram registradas de acordo com a sua ocorrência. Na Tabela 2 segue a descrição das atividades.

Tabela 2 Descrição das atividades observadas no etograma.

Classificação	Atividade	Descrição da atividade observada
Comportamento Ingestivo	Visita ao cocho	Tempo ¹ que permaneceu no cocho ingerindo volumoso.
	Ócio	Tempo sem mastigar (em descanso).
	Ruminação	Tempo em ruminação.
	Pastejo	Tempo gasto na procura de alimento, apreensão, manipulação e ingestão de pastagem.
	Ingestão de água	Número de vezes em que ingeriu água.
Mudanças posturais	Estação	Tempo que permaneceu em pé, em ruminação ou ócio.
	Permanência no Galpão	Tempo que permaneceu dentro do galpão tanto em pé quanto deitada.
	Decúbito Total	Tempo deitada em decúbito esquerdo + direito.
Comportamento Social	Comportamento Dominante	Número de vezes em que fez investidas provocativas ou manifestou comportamento agressor ao disputar recursos como: cocho de água e sombra da árvore.
	Comportamento Submisso	Número de vezes que sofreu a ação da dominante e retirou-se do local, desistindo da disputa.

¹Tempo: em minutos;²Número de vezes: quando da ocorrência da atividade.

As avaliações comportamentais iniciaram por volta das 10 horas e 30 minutos, quando da entrada dos animais no galpão para consumir o volumoso (feno + silagem misturados em vagão forrageiro). Decorrida uma hora, após o consumo do volumoso, iniciava-se a avaliação do comportamento

na pastagem até o sol se pôr (GMT -3:00), totalizando um período de avaliação de 8 horas.

Variáveis climáticas

Os dados climáticos foram obtidos no site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2014) na estação meteorológica mais próxima do local do experimento, Estação automática de Santa Rosa (A810), a 70 km da fazenda. Utilizaram-se as médias de temperatura e umidade dos dias de observações comportamentais para calcular o Índice de Temperatura e Umidade (ITU - JONHSON et al., 1962), o qual serviu como indicador de conforto térmico:

$$ITU = (1,8 \times T_{bs} + 32) - [(0,55 - 0,0055 \times UR) \times (1,8 \times T_{bs} - 26,8)], \text{ onde:}$$

T_{bs} = Temperatura de bulbo seco em °C e

UR = Umidade Relativa %.

Apesar ter sido avaliado efeito de dia, este não será abordado no estudo, apenas o efeito dos tratamentos e a interação.

Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi composto de quatro tratamentos: C = controle - sem adição do extrato de orégano; EO 2,5 = 2,5 gramas; EO 5 = 5,0 gramas e EO 7,5 = 7,5 gramas/dia de extrato de orégano. Na Tabela 3 demonstra-se a homogeneidade dos grupos.

Tabela 3 Número de unidades amostrais, média e desvio padrão de peso e idade

Tratamento	N Amostral	Peso (kg)*	Idade (Meses) *
Controle	10	417 ± 100	18,1± 5,8
2,5 g	08	438± 98	19,1± 5,5
5,0 g	08	418± 110	18,5± 4,9
7,5 g	08	424± 85	18,2± 4,8
Total	34	424 ± 94	18,4 ± 4,2

*Média e desvio padrão do grupo

Para avaliações realizadas no período de 8 horas, com natureza contínua e com distribuição normal, o modelo matemático utilizado foi: $Y_{ijk} = \mu + D_i + T_i + DT(ij) + \gamma(C_{ij} - C) + \epsilon_{ijk}$, onde μ = média geral, D_i = dia de avaliação, $T(i)$ = tratamento (4 doses de extrato de orégano), $DT(ij)$ = Interação Dia x Tratamento, $\gamma(C_{ij} - C)$ = ajuste por covariância da variável mensurada no período de adaptação (dias -12 e -4), antes do fornecimento dos aditivos e ϵ_{ijk} = erro experimental. O consumo foi submetido à análise de variância, considerando o efeito de tratamento e as variáveis do comportamento ingestivo e posturais foram submetidas à análise de variância (PROC MIXED), considerando o efeito de dia, tratamento, interação tratamento e dia e covariável, efeito fixo= tratamento e dia, efeito aleatório = animal, e análise de regressão (PROC REG). O número de eventos de dominância e submissão foi transformado numa resposta binária (0 = não ocorreu e 1 = ocorreu) e foram submetidos à análise logística (PROC LOGISTIC) usando programa estatístico SAS Enterprise Guide 5.1. Adotou-se o nível de 0,05 de probabilidade máxima para a rejeição da hipótese de nulidade.

Resultados

Não houve alteração do consumo de matéria seca total, como quantidade absoluta e como percentual de peso vivo dos animais entre os tratamentos (Tabela 4).

Tabela 4 Média de consumo de matéria seca total, peso corporal e percentual de peso vivo para cada tratamento.

Consumo expresso como	Tratamentos				P>F
	0	2,5	5,0	7,5	
Matéria Seca total (kg)	14,9	14,9	16,4	13,7	NS
Peso Corporal (kg)	499	502	462	502	NS
% Peso Vivo	3,1	3,1	3,7	2,8	NS

NS = Não significativo a 5%.

As variáveis de comportamento ingestivo não diferiram entre os grupos de animais. Houve interação tratamento x dia para a variável de tempo gasto em decúbito total (Tabela 5), havendo um aumento linear no tempo deitada à medida que se aumentou a inclusão de extrato de orégano no 46° dia após o início da suplementação (Tabela 6).

Tabela 5 Nível de significância dos tratamentos (TRAT), Interação tratamento x dia (TXD), covariáveis (COV) e médias das variáveis de comportamento ingestivo e mudanças posturais.

Variáveis Comportamentais	TRAT	TXD	COV	Tratamentos			
				0	2,5	5,0	7,5
Visita ao cocho	NS	NS	<0,0001	11,7	11,2	10,6	11,8
Perm. no Galpão	NS	NS	<0,0001	46,1	49,6	47,4	42,7
Decúbito Total	NS	0,0463	<0,0001	105,7	108,5	113,5	113,1
Estação	NS	NS	0,0026	156,3	148,2	157,8	146,1
Ócio	NS	NS	0,0862	180,2	176,5	188,8	186,0
Ruminação	NS	NS	<0,0001	79,0	76,8	82,1	68,1
Pastejo	NS	NS	<0,0001	46,8	50,6	41,1	46,8
Ingestão de água	NS	NS	NS	2,1	2,3	2,5	1,9

NS = Não significativo a 5%.

Tabela 6 Equações de regressão e coeficiente de variação (R^2) das variáveis de comportamento ingestivo e mudanças posturais.

Variáveis Comportamentais	P>F	Regressão Linear	R^2
Visita ao cocho	NS	$Y = 11,4$	0,0026
Perm. no Galpão	NS	$Y = 46,4$	0,0002
Decúbito Total (Geral)	NS	$Y = 109,9$	0,0020
(Dia 46)	0,0814	$Y = 55,7 + 3,37x$	0,091
Estação	NS	$Y = 152,3$	0,0002
Ócio	NS	$Y = 182,7$	0,0073
Ruminação	NS	$Y = 76,6$	0,0051
Pastejo	NS	$Y = 46,3$	0,0022
Ingestão de água	NS	$Y = 2,17$	0,0001

NS = Não significativo a 5%.

Os dados meteorológicos, utilizados para o cálculo do ITU, referentes ao horário da realização do comportamento no campo (11:00 às 18:00 horas) são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 Valores médios de temperatura, umidade relativa, Índice de temperatura e umidade (ITU) e volume de chuva durante os dias de avaliação de comportamento.

Dia	Temperatura (°C)	Umidade (%)	ITU	Chuva (mm)
-12	19,6	63	65	0
-4	18,6	76	63,9	0
01	24,4	66,8	72,3	0
07	20,8	65,4	67,1	0
14	21,0	68,6	67,2	0
30	15,8	62,3	59,4	0,1
46	13,0	66	55,2	0

Dados retirados do site do INMET, referentes à Estação automática de Santa Rosa (A810).

O risco de ocorrência de eventos de dominância aumentou em 1,12 vezes para cada 2,5 gramas de extrato de orégano adicionado à dieta ($P=0,0496$), enquanto a adição de extrato de orégano não alterou o risco de ocorrência de comportamento de submissão.

Discussão

A ausência de resultados do fornecimento de doses de extrato de orégano na dieta sobre o consumo e o comportamento ingestivo pode ter sido causado pela ausência de efeito negativo do extrato de orégano, a despeito do odor característico sobre a palatabilidade, não modificando a ingestibilidade da dieta, a qual era similar entre os tratamentos exceto pela presença e quantidade de extrato de orégano. Dessa forma a semelhança dos grupos de animais e da dieta explica a ausência de diferenças. Observações visuais realizadas diariamente no fornecimento do concentrado, no presente estudo,

revelaram que os animais consumiam o concentrado prontamente sem tempo de latência.

Apesar da escassez de resultados publicados quanto ao comportamento ingestivo de dietas ou concentrados contendo extrato de orégano, nota-se variabilidade nos resultados, desde ausência de efeito, aumento e diminuição de consumo.

Gabbi et al. (2009) e Tager & Krause (2011) verificaram aumento da taxa de ingestão, atribuindo esse resultado à maior palatabilidade provocada pelo aroma dos óleos essenciais usados. A forma de apresentação pode ter influenciado a variabilidade dos resultados de consumo e comportamento ingestivo entre esse estudo e aqueles já publicados. Gabbi (Comunicação pessoal)¹ forneceu 2,5 g de carvacrol, 50% desse não encapsulado, e observou total rejeição pelos animais, devido ao forte odor. Quando fornecido na forma totalmente encapsulada, um produto contendo extrato de orégano e carvacrol promoveu melhor aceitação da dieta fornecida a ovinos (LIN et al., 2013).

A inclusão de folhas secas de orégano não modificou consumo de ovinos (BAMPIDIS; CHRISTODOULOU; FLOROU-PANERI, 2005) nem de coelhos (OMER et al., 2013). Em contrapartida, ao incluir folhas secas de orégano na dieta de vacas em lactação, o consumo diminuiu linearmente com a taxa de inclusão (HRISTOV et al., 2013).

A alteração do comportamento postural, com o aumento do tempo em decúbito no último dia de avaliação pode ter ocorrido, em parte, pela

¹ Dados obtidos através de comunicação informal em dezembro de 2009 (Alexandre Gabbi).

redução do ITU, verificada entre o início e o final do estudo, uma vez que os animais ficam mais tempo em estação para promover a perda de calor por convecção quando os valores de ITU ultrapassam 72. O efeito significativo do aumento do tempo em decúbito, com o aumento da dose de extrato de orégano, também pode ter sido relacionada ao seu efeito depressor sobre a atividade locomotora (TRABACE et al., 2011).

Segundo Foley et al. (1972), o comportamento social exibido pelos animais é determinado, também, por interações complexas dos seus sistemas nervoso e endócrino. O aumento do risco de ocorrência de eventos de dominância com o consumo crescente das doses de extrato de orégano pode estar relacionado aos efeitos do carvacrol sobre o sistema nervoso central que devido a sua alta permeabilidade na membrana celular é capaz de atravessar a barreira hematoencefálica e agir sobre o sistema nervoso central (SAVELEV; OKELLO; PERRY, 2004; HOTTA et al., 2010; SOUSA, 2011; TRABACE et al., 2011) como ansiolítico e antidepressivo em camundongos (MELO et al., 2010). Seu mecanismo de ação envolve vários neurotransmissores no cérebro (ZOTTI et al., 2013), como serotonina, que afeta o controle da agressão (MOLINA, et al. 1987; GOLDEN, et al. 1991), do apetite e da reatividade senso-motora (LUCKI, 1998), enquanto a dopamina afeta a emoção e a atividade locomotora (BENINGER, 1983). A atuação do carvacrol no cérebro é percebida sete dias após a sua administração consecutiva, e se ingerida regularmente em baixas concentrações pode reforçar efeitos positivos no animal, como o bem-estar (ZOTTI et al., 2013).

Conclusão

A inclusão de até 7,5 gramas/dia/animal de extrato de orégano não altera o consumo nem comportamento ingestivo, porém aumenta os eventos de dominância e pode aumentar o tempo em decúbito de novilhas da raça Holandesa.

Agradecimentos

Esta pesquisa foi apoiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela Advet Nutrição Animal e Sr. Ivan dos Santos por providenciarem o suplemento extrato de orégano e pela Fazenda Tambuí de Independência/RS, por disponibilizar-se auxiliar nas pesquisas fornecendo as dependências e os animais.

Referências Bibliográficas

- Bampidis VA; Christodoulou V and Florou-Paneri P. 2005. Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 121, 285–295.
- Beninger RJ. 1983. The Role of Dopamine in Locomotor Activity and Learning. *Brain Research Reviews* 6, 173–196.
- Benchaar C and Greathead H. 2011. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 166-167, 338–355.
- Foley RC et al. 1972. General herd management. In: *Dairy cattle: principles, practices, problems, profits*. Lea and Febiger: Philadelphia. 693 p.

- Gabbi AM, Moraes RS, Skonieski FR and Viégas J. 2009. Desempenho produtivo e comportamento de novilhas submetidas a dietas com aditivo fitogênico. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 10, 4, 949–962.
- Golden RN, Gilmore JH, Corrigan MH, Ekstrom RD, Knight BT and Garbutt JC. 1991. Serotonin, suicide, and aggression: clinical studies. *Journal of Clinical Psychiatry*, 52, 61–69.
- Hotta M, Nakata R, Katsukawa M, Hori K, Takahashi S and Inoue H. 2010. Carvacrol, a component of thyme oil, activates PPAR alpha and gamma and suppresses COX-2 expression. *Journal of Lipid Research*, 51, 132–139.
- Hristov AN, Lee C, Cassidy T, Heyler K, Tekippe J, Varga G, Corl B and Brandt RC. 2013. Effect of *Origanum vulgare* L. leaves on rumen fermentation, production, and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96, 2, 1189–202.
- INMET. 2014. Instituto Nacional de Meteorologia. Estações e dados: Estação automática de Santa Rosa (A810). Disponível em: < <http://www.inmet.gov.br/>> Acesso em: 04 jul. 2014.
- Johson HD et al. 1962. Effect of various temperature-humidity combinations on milk productions of Holstein cattle. Columbia: University of Missouri, 39 p.
- Kozloski GV, Perez D, Oliveira L, Maixner AR, Leite DT, Maccari M, Brondani IL, Sanchez LMB and Quadros LF. 2006. Redalyc. Uso de óxido de cromo como indicador da excreção fecal de bovinos em pastejo: variação das estimativas em função do horário de amostragem. *Ciência Rural*, 36, 2, 599–603.
- Lin B, Lu Y, Salem AZM, Wang JH, Liang Q and Liu JX. 2013. Effects of essential oil combinations on sheep ruminal fermentation and digestibility of a diet with fumarate included. *Animal Feed Science and Technology*, 184, 1-4, 24–32.
- Lucki I. 1998. The Spectrum of Behaviors Influenced by Serotonin. *Biological Psychiatry*, 44, 151–162.

- Melo FHC, Venâncio E, Sousa DP, Fonteles MMF, Vasconcelos SMM, Viana GSB and Sousa FCF. 2010. Anxiolytic-like effect of Carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol) in mice: involvement with GABAergic transmission. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 24, 437–443.
- Molina V, Ciesielski L, Gobaille S, Isel F and Mandel PI. 1987. Inhibition of mouse-killing behavior by serotonin-mimetic drugs: effects of partial alterations of serotonin neurotransmission. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 27, 123–131.
- NRC. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
- Omer HAA et al. 2013. Improving the Utilization of Rabbit Diets Containing Vegetable Oil by Using Fennel (*Foeniculum vulgare*) And Oregano (*Origanum vulgare* L) as Feed Additives. *Life Science Journal*, 10, 1, 1–12.
- Savelev SU, Okello EJ and Perry EK. 2004. Activities in Essential Oils of *Salvia* Species and Their Constituents. *Phytotherapy Research*, 18, 315–324.
- Silva RR, Prado IN, Carvalho GGP, Junior HAS, Silva FF and Dias DLS. 2008. Efeito da utilização de três intervalos de observações sobre a precisão dos resultados obtidos no estudo do comportamento ingestivo de vacas leiteiras em pastejo. *Ciência Animal Brasileira*, 9, 2, 319–326.
- Sousa BM. Alimentação da novilha leiteira. In: *Alimentação de Gado de Leite*. Belo Horizonte. Brasil: FEPMVZ - Editora, 2009, 418.
- Sousa DP. 2011. Analgesic-like activity of essential oils constituents. *Molecules*, 16, 3, 2233–2252.
- Tager LR and Krause K. 2011. Effects of essential oils on rumen fermentation, milk production, and feeding behavior in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94, 2455–2464.

- Tekippe JA, Hristov NA, Heyler KS, Cassidy TW, Zheljzakov VD, Ferreira JFS, Karnati SK and Varga GA. 2011. Rumen fermentation and production effects of *Origanum vulgare* L. leaves in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94, 10, 5065–5079.
- Trabace L, Zotti M, Morgese MG, Tucci P, Colaianna M, Schiavone S, Avato P and Cuomo V. 2011. Estrous cycle affects the neurochemical and neurobehavioral profile of carvacrol-treated female rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 255, 2, 169–175.
- Venancio AM. 2006. Toxicidade aguda e atividade antinociceptiva do óleo essencial do *Ocimum basilicum* L. (manjeriçã), em *Mus musculus* (camundongos). Dissertação de Mestrado, Universidade de Sergipe, Aracaju, Brasil.
- Zotti M, Colaianna M, Morgese MG, Tucci P, Schiavone S, Avato P and Trabace L. 2013. Carvacrol: from ancient flavoring to neuromodulatory agent. *Molecules*, 18, 6, 6161–6172.

CAPÍTULO III

4.1 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo do comportamento animal tem demonstrado eficiência para apontar alterações fisiológicas no animal, o que vem sendo considerado especialmente quando se trata de bem-estar animal, além de evidenciar que os animais são seres capazes de sentir e expressar ações frente a determinados estímulos.

Por isso, alguns estudos recentes evidenciam que há a ação de compostos secundários de plantas sobre modificações no sistema digestivo e seus efeitos benéficos sobre a produção animal, mas essa afirmação não pôde ser confirmada pelo presente estudo. Atividades que não eram consideradas como foco principal do trabalho se destacaram como no caso do comportamento social, os eventos de dominância.

Este resultado esclarece a importância de se valorizar todos os dados recolhidos durante o período experimental, pois pode direcionar o foco de novos estudos, como por exemplo, a coleta e análise de parâmetros sanguíneos para evidenciar o aumento da atividade de neurotransmissores.

A questão do comportamento dominante não significa que é uma resposta negativa ao tratamento, pois pode ser apenas uma forma do animal manifestar sua satisfação com o meio, cabendo ao produtor decidir a melhor opção para utilizar-se desta ferramenta. Sendo necessários estudos mais aprofundados sobre esta questão para aumentar a acurácia do seu efeito sobre o comportamento animal.

4.2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAZZA, S.; LYOUSSI, B.; MIGUEL, M. G. Antioxidant and Antiacetylcholinesterase Activities of Some Commercial Essential Oils and Their Major Compounds. **Molecules**, Basel, v. 16, p. 7672–7690, 2011.

ABDEL-WARETH, A. A. A. et al. Effects of thyme and oregano on growth performance of broilers from 4 to 42 days of age and on microbial counts in crop, small intestine and caecum of 42-day-old broilers. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 178, n. 3-4, p. 198–202, 2012.

ATHANASIADOU, S.; KYRIAZAKIS, I.; JAKSON, S.; COOP, R.L. Consequences of long-term feeding with condensed tannins on sheep parasitised with *Trichostrongylus colubriformis*. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v.30, p.1025-1033, 2000a.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, Elmsford, v. 46, p. 446–475, 2008.

BAMPIDIS, V. A.; CHRISTODOULOU, V.; FLOROU-PANERI, P. Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 121, p. 285–295, 2005.

BASER, K. H. C. Biological and Pharmacological Activities of Carvacrol and Carvacrol Bearing Essential Oils. **Current Pharmaceutical Design**, San Francisco, v. 14, n. 29, p. 3106–3119, 2008.

BENCHAAR, C. et al. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 145, n. 924, p. 209–228, 2008.

BENCHAAR, C.; GREATHEAD, H. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 166-167, p. 338–355, 2011.

BENINGER, R. J. The Role of Dopamine in Locomotor Activity and Learning. **Brain Research Reviews**, Amsterdam, v. 6, p. 173–196, 1983.

BODEWES, T. C. F. et al. Antioxidative Properties of Flavonoids. **Current Organic Chemistry**, Hilversum, v. 15, p. 2616–2626, 2011.

BROUGHAN, C. Odours, emotions, and cognition – how odours may affect cognitive performance. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 12, n. 2, p. 92–98, 2002.

BURT, S. Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in foods — a review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 94, p. 223–253, 2004.

CALSAMIGLIA, S. et al. Invited Review : Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 6, p. 2580–2595, 2007.

CANBEK, M. et al. Effects of carvacrol on defects of ischemia-reperfusion in the rat liver. **Phytomedicine**, Stuttgart, v. 15, p. 447–452, 2008.

CASTRO, H. G. DE et al. Teor e compositão do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 55–57, 2004.

CHACÓN, I. D.-C.; RILEY-SALDANA, C. A.; GONZÁLEZ-ESQUINCA, A. R. Secondary metabolites during early development in plants. **Phytochemistry Reviews**, Dordrecht, v. 12, p. 47–64, 2013.

CHAVES, A. V et al. Effects of cinnamon leaf, oregano and sweet orange essential oils on fermentation and aerobic stability of barley silage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 92, n. 4, p. 906–915, 15 mar. 2012.

FOLEY, R. C et al. General herd management. In: **Dairy cattle: principles, practices, problems, profits**. Lea and Febiger: Philadelphia. 1972. 693 p.

GABBI, A. M. et al. Desempenho produtivo e comportamento de novilhas submetidas a dietas com aditivo fitogênico. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 10, n. 4, p. 949–962, 2009.

GAO, X.; OBA, M. Relationship of severity of subacute ruminal acidosis to rumen fermentation , chewing activities , sorting behavior , and milk production in lactating dairy cows fed a high-grain diet. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 2009, p. 3006–3016, 2014.

GOLDEN, R.N.; GILMORE, J.H. Serotonin and mood disorders. **Psychiatric Annals**, Thorofare, v. 20, n. 10, p. 580–586, 1990.

GOLDEN, R.N. et al. Serotonin, suicide, and aggression: clinical studies. **Journal of Clinical Psychiatry**, Memphis, v. 52, p. 61–69, 1991.

GOMES, P. B. et al. Pharmacology , Biochemistry and Behavior Anxiolytic-like effect of the monoterpene 1 , 4-cineole in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, Phoenix, v. 96, n. 3, p. 287–293, 2010.

GUAN, H. et al. Efficacy of ionophores in cattle diets for mitigation of enteric methane. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 1896–1906, 2006.

HART, K. J. et al. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 147, p. 8–35, 2008.

HASHEMZADEH-CIGARI, F. et al. Effects of supplementation with a phytobiotics-rich herbal mixture on performance , udder health , and metabolic status of Holstein cows with various levels of milk somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 12, p. 7487–7497, 2014.

HOSTE, H. et al. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 22, n. 6, 2006.

HOTTA, M. et al. Carvacrol, a component of thyme oil, activates PPAR alpha and gamma and suppresses COX-2 expression. **Journal of Lipid Research**, Bethesda, v. 51, p. 132–139, 2010.

HRISTOV, A N. et al. Effect of Origanum vulgare L. leaves on rumen fermentation, production, and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, Champaign, v. 96, n. 2, p. 1189–202, fev. 2013.

INMET. **Estações e dados: Estação automática de Santa Rosa (A810)**. Disponível em: < <http://www.inmet.gov.br/>> Acesso em: 04 jul. 2014.

JAYANEGARA, A. et al. Animal Feed Science and Technology Tannins determined by various methods as predictors of methane production reduction potential of plants by an in vitro rumen fermentation system. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 150, p. 230–237, 2009.

JOHNSON, H. D. et al. Effect of various temperature-humidity combinations on milk productions of Holstein cattle. **Columbia: University of Missouri**, 1962. 39 p.

KHIAOSA-ARD, R.; ZEBELI, Q. Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 91, p. 1819–1830, 2013.

KIM, E. T. et al. The Effect of Plant Extracts on In-vitro Ruminal Fermentation , Methanogenesis and Methane-related Microbes in the Rumen. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, Seoul, v. 26, n. 4, p. 517–522, 2013.

KOZLOSKI, G. V. et al. Redalyc. Uso de óxido de cromo como indicador da excreção fecal de bovinos em pastejo: variação das estimativas em função do horário de amostragem. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 599–603, 2006.

LAUZON, K. et al. Antioxidants to Prevent Bovine Neutrophil-Induced Mammary Epithelial Cell Damage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 867, p. 4295–4303, 2005.

LEJONKLEV, J. et al. Transfer of terpenes from essential oils into cow milk. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 7, p. 4235–4241, 2013.

LIN, B. et al. Effects of essential oil combinations on sheep ruminal fermentation and digestibility of a diet with fumarate included. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 184, n. 1-4, p. 24–32, ago. 2013.

LLANA-RUIZ-CABELLO, M. et al. Cytotoxicity and morphological effects induced by carvacrol and thymol on the human cell line Caco-2. **Food and Chemical Toxicology**, Elmsford, v. 64, p. 281–290, 2014.

LUCKI, I. The Spectrum of Behaviors Influenced by Serotonin. **Biological Psychiatry**, New York, v. 44, p. 151–162, 1998.

MELO, F. H. C. et al. Anxiolytic-like effect of Carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol) in mice: involvement with GABAergic transmission. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, Paris, v. 24, p. 437–443, 2010.

MIN, B. R. et al. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 106, p. 3–19, 2003.

MOLINA, V. et al. Inhibition of mouse-killing behavior by serotonin-mimetic drugs: effects of partial alterations of serotonin neurotransmission. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, Phoenix, v. 27, p.123–131, 1987.

NOWOTARSKA, S. W. et al. Effect of Structure on the Interactions between Five Natural Antimicrobial Compounds and Phospholipids of Bacterial Cell Membrane on Model Monolayers. **Molecules**, Basel, v. 19, p. 7497–7515, 2014.

NURMI, A. et al. Ingestion of Oregano Extract Increases Excretion of Urinary Phenolic Metabolites in Humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, p. 6916–6923, 2006.

OMER, H. A. A. et al. Improving the Utilization of Rabbit Diets Containing Vegetable Oil by Using Fennel (*Foeniculum vulgare*) And Oregano (*Origanum vulgare* L) as Feed Additives. **Life Science Journal**, New York, v. 10, n. 1, p. 1–12, 2013.

OSKOUFIAN, E.; ABDULLAH, N.; OSKOUFIAN, A. Effects of Flavonoids on Rumen Fermentation Activity , Methane Production , and Microbial Population. **BioMed Research International**, New York, p. 1–8, 2013.

PARANHOS DA COSTA, M. J. R.; COSTA E SILVA, E. V. DA. Aspectos básicos do comportamento social de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.172-176, abr./jun. 2007. (Palestra apresentada no XVII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 31 de maio a 2 de junho de 2007, Curitiba/PR.) Disponível em: <<http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/download/172.pdf> >. Acesso em: 28 abr. 2015.

PARNAS, M. et al. Cell Calcium Carvacrol is a novel inhibitor of Drosophila TRPL and mammalian TRPM7 channels. **Cell Calcium**, Edinburgh, v. 45, p. 300–309, 2009.

PIRES, L. F.; FREITAS, R. M. DE; TUPINAMBÁ, C. Efeito antidepressivo e atividade serotoninérgica da curcumina em modelos de animais de depressão. **Revista Farmacologia Chile**, Santiago, v. 6, n. 1, p. 37–44, 2013.

ROPAPHARM INTERNATIONAL. **Ropapharm gives you the benefit of nature**. Zaandam, 1995. Disponível em: <<http://www.ropapharm.com>> Acesso em: 27 jan. 2015.

SAVELEV, S. U.; OKELLO, E. J.; PERRY, E. K. Activities in Essential Oils of Salvia Species and Their Constituents. **Phytotherapy Research**, Chinchester, v. 18, p. 315–324, 2004.

SCHIRMANN, K. et al. Rumination and its relationship to feeding and lying behavior in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 6, p. 3212–3217, jun. 2012.

SHEIBANI, V. et al. Evaluation of Origanum Vulgare L . ssp . Viridis Leaves Extract Effect on Discrimination Learning and LTP Induction in the CA1 Region of the Rat Hippocampus. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, Mashhad, v. 14, n. 1, p. 177–184, 2011.

SILVA, R. R. et al. Efeito da utilização de três intervalos de observações sobre a precisão dos resultados obtidos no estudo do comportamento ingestivo de vacas leiteiras em pastejo. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 9, n. 2, p. 319–326, 2008.

SOUSA, B. M. Alimentação da novilha leiteira. In: Alimentação de Gado de Leite. Belo Horizonte: FEPMVZ , 2009. 418 p.

SOUSA, D. P. . Analgesic-like activity of essential oils constituents. **Molecules**, Basel, v. 16, n. 3, p. 2233–52, jan. 2011.

TAGER, L. R.; KRAUSE, K. Effects of essential oils on rumen fermentation , milk production , and feeding behavior in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 2455–2464, 2011.

TEDESCO, D. et al. Effects of silymarin, a natural hepatoprotector, in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 7, p. 2239–47, jul. 2004.

TEIXEIRA, B. et al. Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oils. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 93, n. April, p. 2707–2714, 2013.

TEKIPPE, J. A. et al. Rumen fermentation and production effects of *Origanum vulgare* L. leaves in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 10, p. 5065–79, out. 2011.

TEKIPPE, J. A. et al. Effects of plants and essential oils on ruminal in vitro batch culture methane production and fermentation. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 92, p. 395–408, 2012.

TRABACE, L. et al. Estrous cycle affects the neurochemical and neurobehavioral profile of carvacrol-treated female rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, New York, v. 255, n. 2, p. 169–175, 2011.

VAN SOEST, P.J. Plant defensive chemicals. In: **Nutritional ecology of the ruminant**, 2 ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476p.

VENANCIO, A. M. **Toxicidade aguda e atividade antinociceptiva do óleo essencial do *Ocimum basilicum* L. (manjeriçã), em *Mus musculus* (camundongos)**. Dissertação (Mestrado) - Núcleo de Pós-Graduação em Medicina, Universidade de Sergipe, Aracaju, 2006.

VIALON, C. et al. Transfer of monoterpenes and sesquiterpenes from forages into milk fat. **Le Lait - Dairy Science and Technology**, [Les Ulis], v. 80, p. 635–641, 2000.

WANG, C. J.; WANG, S. P.; ZHOU, H. Influences of flavomycin, ropadiar, and saponin on nutrient digestibility, rumen fermentation, and methane emission from sheep. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 148, p. 157–166, 2009.

WISE, R. A. The role of reward pathways in the development of drug dependence. **Pharmacology and Therapeutics**, Oxford, v. 35, n. 1-2, p. 227–263, 1987.

ZOTTI, M. et al. Carvacrol: from ancient flavoring to neuromodulatory agent. **Molecules**, Basel, v. 18, n. 6, p. 6161–72, jan. 2013.

4.3 APÊNDICES

APÊNDICE 1 - Variáveis comportamentais coletadas durante o período diurno, sendo sete dias de avaliação.

Tratamento	Número do Animal	Peso Inicial	Dia	THI	Medida	Visita ao cocho	Permanência no galpão	Decúbito Total	Decúbito Direito	Decúbito Esquerdo	Estação	Ócio	Ruminação	Caminhada	Pastejo	Ingestão de água	Sombra Natural	Dominante	Submissa	Coça/lambe colegas	Corrida	Comer terra	Coça/lambe árvore
0	825	526	-12	62	49	19	120	50	.	.	160	120	80	2	40	2	0	1	1	0	1	0	0
2,5	827	622	-12	62	49	15	170	80	.	.	210	170	120	1	20	2	0	0	0	0	0	0	0
5	844	570	-12	62	49	15	190	100	.	.	110	140	70	4	80	1	0	3	0	0	0	0	0
7,5	846	504	-12	62	49	15	120	90	.	.	170	200	70	4	30	2	2	8	1	0	1	0	0
0	850	577	-12	62	49	19	160	20	.	.	160	140	50	2	90	2	0	6	0	0	0	0	0
2,5	851	511	-12	62	49	23	150	40	.	.	130	120	50	2	70	1	0	7	0	0	0	0	0
5	853	592	-12	62	49	14	200	110	.	.	100	120	90	4	80	2	0	2	0	0	1	0	0
7,5	854	555	-12	62	49	13	120	60	.	.	220	170	100	2	50	2	0	2	0	0	0	0	0
0	859	483	-12	62	49	25	170	40	.	.	180	100	100	0	10	1	0	1	1	0	0	0	0
2,5	860	476	-12	62	49	18	160	40	.	.	120	130	40	1	110	2	0	2	1	0	0	0	0
5	861	416	-12	62	49	15	190	30	.	.	180	150	60	0	120	3	0	1	2	0	0	0	0
7,5	866	442	-12	62	49	13	140	40	.	.	190	190	50	0	110	2	0	1	2	0	0	0	0
0	870	462	-12	62	49	11	230	90	.	.	160	170	80	2	100	2	0	1	1	0	0	0	0
2,5	871	455	-12	62	49	19	140	60	.	.	60	90	30	3	140	3	0	4	0	0	0	0	0
5	873	372	-12	62	49	11	110	40	.	.	170	180	40	2	130	2	0	1	2	0	0	1	0
7,5	877	455	-12	62	49	16	140	90	.	.	130	170	40	2	60	3	0	4	0	0	1	0	0
0	878	410	-12	62	49	21	150	40	.	.	150	100	90	3	60	2	0	0	2	0	0	1	0
2,5	882	379	-12	62	49	10	230	120	.	.	110	160	70	2	110	0	0	0	1	0	0	0	0
5	883	429	-12	62	49	15	160	0	.	.	190	180	10	1	120	3	0	1	3	0	0	0	0
7,5	884	410	-12	62	49	7	180	30	.	.	220	210	40	3	120	2	1	2	1	0	1	0	0

Continuação do Apêndice 1

0	885	435	-12	62	49	18	190	100	.	.	100	140	60	1	100	0	0	0	0	0	0	0	0
2,5	886	373	-12	62	49	12	220	160	.	.	80	150	80	0	100	1	0	1	4	0	1	1	0
7,5	888	403	-12	62	49	11	250	110	.	.	140	160	80	1	110	1	0	1	3	0	0	0	0
5	889	360	-12	62	49	5	150	70	.	.	170	270	0	1	130	2	0	0	4	0	0	0	0
0	890	385	-12	62	49	9	130	90	.	.	200	230	50	1	80	1	0	0	1	0	0	0	0
2,5	897	373	-12	62	49	6	80	40	.	.	190	230	20	1	150	3	1	1	0	0	0	0	0
5	898	301	-12	62	49	13	80	60	.	.	150	140	60	1	100	4	2	2	2	0	1	1	0
7,5	899	338	-12	62	49	8	30	70	.	.	90	120	40	3	190	2	1	1	3	0	1	0	0
0	900	316	-12	62	49	10	60	70	.	.	140	160	50	6	140	2	1	0	6	0	1	0	0
2,5	901	316	-12	62	49	9	60	80	.	.	110	160	30	3	140	1	2	0	2	0	1	1	0
5	902	311	-12	62	49	8	20	120	.	.	100	160	60	4	130	1	3	0	1	0	1	1	0
7,5	904	290	-12	62	49	7	40	160	.	.	90	240	30	4	100	1	5	0	0	0	1	2	0
0	906	275	-12	62	49	6	0	70	.	.	80	100	50	5	210	1	1	0	1	0	1	0	0
0	909	301	-12	62	49	11	90	20	.	.	140	130	30	3	170	4	0	0	3	0	1	2	0
0	825	526	-4	58	45	14	200	10	10	0	250	200	50	5	20	1	0	1	0	3	0	0	0
2,5	827	622	-4	58	45	16	190	0	0	0	230	140	110	5	10	1	0	1	0	1	0	1	0
5	844	570	-4	58	45	16	190	70	50	20	190	160	100	1	10	1	0	2	0	0	0	0	0
7,5	846	504	-4	58	45	17	200	0	0	0	250	140	110	0	20	2	0	2	0	1	0	0	0
0	850	577	-4	58	45	17	200	0	0	0	220	150	80	4	30	1	0	0	0	0	0	0	0
2,5	851	511	-4	58	45	19	210	0	0	0	200	170	50	4	20	2	0	2	0	1	0	0	0
5	853	592	-4	58	45	19	220	120	50	70	110	100	120	0	30	1	0	0	0	1	0	0	0
7,5	854	555	-4	58	45	18	220	0	0	0	260	150	110	3	0	0	0	1	0	3	0	0	0
0	859	483	-4	58	45	21	120	0	0	0	200	110	110	3	20	1	0	0	1	2	0	0	0
2,5	860	476	-4	58	45	14	220	70	10	60	210	150	130	2	20	1	0	2	0	0	0	0	0
5	861	416	-4	58	45	17	140	0	0	0	210	160	50	3	40	2	0	0	1	0	0	0	0

Continuação do Apêndice 1

7,5	866	442	-4	58	45	11	180	10	0	10	290	180	120	2	30	1	0	1	0	6	0	0	0
0	870	462	-4	58	45	15	210	70	30	40	170	170	80	5	0	1	0	1	1	0	0	0	0
2,5	871	455	-4	58	45	17	170	50	30	20	190	150	90	1	40	1	0	1	0	1	0	0	0
5	873	372	-4	58	45	10	100	50	50	0	190	150	90	3	80	2	1	1	2	1	0	0	0
7,5	877	455	-4	58	45	14	160	30	20	10	220	180	80	5	20	1	0	4	5	2	0	0	0
0	878	410	-4	58	45	18	180	40	30	10	180	110	110	3	10	3	0	0	0	1	0	1	0
2,5	882	379	-4	58	45	13	200	110	100	10	130	130	110	2	50	1	0	2	1	3	0	0	0
5	883	429	-4	58	45	16	210	10	0	10	220	150	80	2	40	1	0	1	1	2	0	0	0
7,5	884	410	-4	58	45	13	180	0	0	0	190	160	40	7	90	3	0	1	0	3	0	0	0
0	885	435	-4	58	45	11	220	70	0	70	200	150	120	1	50	2	0	1	0	1	0	0	0
2,5	886	373	-4	58	45	14	230	90	40	50	150	140	100	2	40	0	0	0	0	2	0	0	0
7,5	888	403	-4	58	45	8	210	70	70	0	200	160	120	7	40	1	0	2	0	1	0	1	0
5	889	360	-4	58	45	4	0	10	10	0	250	250	20	6	80	3	5	0	0	3	0	0	0
0	890	385	-4	58	45	8	90	30	20	10	190	160	70	6	100	1	5	0	2	1	0	1	1
2,5	897	373	-4	58	45	8	50	70	0	70	160	100	120	3	90	4	5	0	1	1	0	0	1
5	898	301	-4	58	45	8	50	60	50	10	190	130	110	4	70	2	5	0	1	1	0	0	0
7,5	899	338	-4	58	45	6	20	130	90	40	140	170	100	4	60	2	4	0	1	1	0	1	0
0	900	316	-4	58	45	8	30	140	0	140	130	150	130	3	60	2	5	0	2	1	0	1	0
2,5	901	316	-4	58	45	7	30	20	0	20	240	200	40	8	40	1	3	0	6	9	0	0	0
5	902	311	-4	58	45	8	30	140	60	80	120	190	80	3	70	2	5	0	0	1	0	1	1
7,5	904	290	-4	58	45	7	20	130	10	120	140	150	90	4	70	6	0	0	0	0	0	1	1
0	906	275	-4	58	45	5	0	100	40	60	190	240	50	4	70	2	4	0	2	0	0	1	0
0	909	301	-4	58	45	5	10	80	80	0	140	130	80	2	130	2	4	2	1	1	0	0	1
0	825	526	1	69	45	14	100	0	0	0	310	200	110	0	0	2	9	4	0	3	0	0	1

Continuação do Apêndice 1

2,5	827	622	1	69	45	10	160	20	10	10	290	170	140	4	10	1	9	0	0	1	0	0	0
5	844	570	1	69	45	16	110	20	20	0	230	170	70	2	30	1	9	6	1	7	0	0	0
7,5	846	504	1	69	45	18	60	40	10	30	190	170	60	2	30	1	9	10	1	1	0	1	0
0	850	577	1	69	45	14	170	0	0	0	290	220	60	3	20	1	8	1	0	2	0	0	0
2,5	851	511	1	69	45	18	110	20	20	0	240	190	70	4	0	0	11	4	0	1	0	0	0
5	853	592	1	69	45	15	140	130	80	50	140	220	60	4	0	2	10	4	0	1	0	0	0
7,5	854	555	1	69	45	17	140	60	60	0	210	170	100	1	0	1	7	0	0	2	0	0	1
0	859	483	1	69	45	15	70	10	0	10	260	180	90	2	10	2	10	2	1	2	0	1	0
2,5	860	476	1	69	45	16	140	80	0	80	180	170	90	2	20	1	0	0	1	5	0	0	0
5	861	416	1	69	45	15	120	60	40	20	200	180	80	6	10	4	3	2	2	1	0	0	0
7,5	866	442	1	69	45	17	90	40	40	0	150	110	70	4	50	2	3	2	4	2	0	0	0
0	870	462	1	69	45	20	70	90	50	40	120	100	110	5	0	3	0	0	3	2	0	0	0
2,5	871	455	1	69	45	17	100	90	20	70	160	220	30	3	0	3	6	1	3	3	0	0	0
5	873	372	1	69	45	10	120	70	70	0	210	190	90	3	30	1	7	1	4	1	0	0	0
7,5	877	455	1	69	45	16	80	50	10	40	200	190	30	4	10	2	7	7	2	1	0	1	3
0	878	410	1	69	45	15	90	70	30	40	210	180	100	2	0	2	6	0	3	2	0	0	0
2,5	882	379	1	69	45	12	150	140	90	50	140	220	40	3	20	1	3	2	1	3	0	1	0
5	883	429	1	69	45	18	70	40	10	30	190	160	70	2	20	1	8	2	0	3	0	1	0
7,5	884	410	1	69	45	15	110	10	0	10	230	200	40	3	40	3	7	2	1	2	0	0	0
0	885	435	1	69	45	9	170	60	0	60	230	170	100	3	20	1	4	0	3	2	0	0	2
2,5	886	373	1	69	45	14	140	150	90	60	130	160	120	4	20	2	6	3	0	0	0	0	0
7,5	888	403	1	69	45	11	70	90	30	60	210	180	120	5	0	3	6	0	1	1	0	0	1
5	889	360	1	69	45	6	50	10	10	0	270	260	0	1	0	3	3	2	1	5	0	0	0

Continuação do Apêndice 1

0	890	385	1	69	45	13	110	80	50	30	160	180	60	3	30	2	8	0	3	3	0	1	0
2,5	897	373	1	69	45	10	160	110	70	40	150	250	30	1	60	1	4	0	4	2	0	0	1
5	898	301	1	69	45	12	40	100	40	60	200	200	90	3	0	2	7	5	4	2	0	1	1
7,5	899	338	1	69	45	6	10	60	0	60	220	200	30	8	10	1	2	2	1	11	0	1	0
0	900	316	1	69	45	9	60	130	0	130	170	250	40	5	30	1	5	1	6	2	0	0	0
2,5	901	316	1	69	45	6	20	130	90	40	150	210	30	2	100	1	2	2	4	1	0	1	0
5	902	311	1	69	45	9	30	150	110	40	120	200	70	5	40	1	0	2	2	1	0	1	0
7,5	904	290	1	69	45	7	10	180	180	0	100	240	40	2	90	1	1	0	1	2	0	0	1
0	906	275	1	69	45	5	10	70	30	40	160	210	20	2	140	1	2	0	6	2	0	0	1
0	909	301	1	69	45	9	10	60	10	50	170	140	90	1	110	1	4	1	8	3	0	0	1
0	825	526	7	64	46	18	50	120	20	100	130	170	80	2	0	2	0	2	0	4	0	0	0
2,5	827	622	7	64	46	9	90	80	50	30	210	210	80	6	0	2	3	1	1	5	0	0	0
5	844	570	7	64	46	12	70	160	30	130	130	150	150	4	10	1	2	2	0	4	0	0	0
7,5	846	504	7	64	46	17	70	100	50	50	160	160	100	2	0	3	2	4	0	1	0	0	0
0	850	577	7	64	46	16	30	120	110	10	140	140	120	3	0	2	3	2	0	2	0	0	0
2,5	851	511	7	64	46	15	30	160	90	70	110	160	110	5	0	2	2	3	0	1	0	0	0
5	853	592	7	64	46	19	70	150	50	100	110	160	100	2	0	2	0	0	0	4	0	0	0
7,5	854	555	7	64	46	18	80	130	130	0	110	170	70	3	10	1	0	3	1	3	0	0	0
0	859	483	7	64	46	12	30	130	0	130	140	140	130	2	40	1	4	0	3	1	0	0	0
2,5	860	476	7	64	46	15	50	170	90	80	80	100	150	3	40	1	2	0	0	3	0	1	0
5	861	416	7	64	46	12	30	150	120	30	90	150	90	5	60	2	4	0	0	2	0	0	0
7,5	866	442	7	64	46	14	70	170	110	60	80	140	110	3	40	1	0	1	0	2	0	0	0
0	870	462	7	64	46	13	120	150	90	60	140	200	90	3	0	2	0	0	1	0	0	0	0

Continuação do Apêndice 1

2,5	871	455	7	64	46	15	50	110	90	20	140	190	60	5	0	4	3	2	3	4	0	0	0
5	873	372	7	64	46	9	40	150	100	50	110	150	110	1	90	3	3	1	1	4	0	0	0
7,5	877	455	7	64	46	12	20	90	80	10	120	150	60	9	30	1	0	3	0	4	0	0	0
0	878	410	7	64	46	19	70	120	60	60	130	110	130	3	0	4	0	0	0	0	0	0	0
2,5	882	379	7	64	46	10	80	180	120	60	90	190	90	2	70	1	1	4	0	4	0	0	0
5	883	429	7	64	46	9	40	190	190	0	120	170	140	2	30	2	8	1	1	8	0	0	0
7,5	884	410	7	64	46	10	30	140	0	140	150	180	110	5	20	2	3	0	0	3	0	0	0
0	885	435	7	64	46	14	20	150	150	0	60	80	130	4	60	2	0	0	0	3	0	0	0
2,5	886	373	7	64	46	14	80	190	110	80	80	100	170	3	20	1	0	1	0	7	0	0	0
7,5	888	403	7	64	46	6	50	140	40	100	160	190	110	4	50	2	4	0	0	3	0	0	0
5	889	360	7	64	46	5	30	50	50	0	110	120	40	7	160	5	2	1	1	2	0	0	0
0	890	385	7	64	46	11	20	140	100	40	120	190	70	3	60	2	0	2	3	5	0	0	0
2,5	897	373	7	64	46	5	30	0	0	0	190	150	40	17	40	1	2	0	3	17	0	0	0
5	898	301	7	64	46	8	20	140	100	40	140	160	120	4	60	2	5	0	2	4	0	0	0
7,5	899	338	7	64	46	7	40	110	80	30	60	130	50	7	130	1	0	0	1	6	0	0	0
0	900	316	7	64	46	9	20	160	60	100	90	170	80	4	70	1	4	0	2	3	0	0	0
2,5	901	316	7	64	46	6	0	190	100	90	90	170	110	3	80	2	0	0	2	4	0	1	0
5	902	311	7	64	46	7	10	170	60	110	80	200	50	6	80	2	0	0	3	4	0	2	0
7,5	904	290	7	64	46	5	10	170	0	170	130	180	120	2	90	1	1	0	1	7	0	1	0
0	906	275	7	64	46	5	0	180	90	90	50	160	70	2	150	1	0	0	1	3	0	0	0
0	909	301	7	64	46	7	50	160	60	100	90	140	110	6	90	2	0	0	4	6	0	1	0
0	825	526	14	64	46	16	50	140	110	30	140	230	50	4	0	1	12	2	0	0	0	0	0
2,5	827	622	14	64	46	9	80	70	10	60	220	160	130	4	30	2	12	1	0	2	0	0	0
5	844	570	14	64	46	14	60	140	40	100	150	190	90	1	0	1	14	3	1	0	0	0	0

Continuação do Apêndice 1

7,5	846	504	14	64	46	18	40	140	50	90	120	170	90	1	0	1	18	3	2	1	0	0	0
0	850	577	14	64	46	12	70	190	140	50	80	160	110	2	30	1	4	0	0	1	0	0	0
2,5	851	511	14	64	46	19	0	90	80	10	130	120	100	1	40	1	11	2	0	2	0	0	0
5	853	592	14	64	46	12	90	190	90	100	120	150	150	2	10	6	0	4	0	1	0	0	0
7,5	854	555	14	64	46	21	40	120	120	0	90	110	100	3	0	2	11	3	0	3	0	0	0
0	859	483	14	64	46	15	20	130	50	80	180	220	90	1	0	1	12	1	0	1	0	0	0
2,5	860	476	14	64	46	18	50	100	0	100	130	90	140	1	40	1	9	1	1	2	0	0	0
5	861	416	14	64	46	11	60	150	110	40	120	170	90	3	40	2	13	3	1	0	0	0	0
7,5	866	442	14	64	46	13	50	110	20	90	130	170	70	1	80	1	14	1	0	0	0	0	0
0	870	462	14	64	46	15	70	150	90	60	80	140	80	3	50	2	14	0	4	0	0	0	0
2,5	871	455	14	64	46	14	60	70	60	10	130	190	10	2	70	3	13	4	1	2	0	1	0
5	873	372	14	64	46	11	50	200	80	120	90	160	140	2	30	1	21	0	1	2	0	0	0
7,5	877	455	14	64	46	13	50	200	90	110	110	210	100	2	0	1	17	2	0	0	0	0	0
0	878	410	14	64	46	18	20	90	40	50	160	140	110	2	10	2	19	0	2	0	0	0	0
2,5	882	379	14	64	46	9	80	200	50	150	80	130	140	1	70	1	6	2	0	1	0	0	0
5	883	429	14	64	46	16	30	150	150	0	120	170	80	1	20	2	16	4	2	4	0	0	0
7,5	884	410	14	64	46	16	40	160	50	110	100	210	50	1	20	2	5	0	1	0	0	0	0
0	885	435	14	64	46	15	50	160	70	90	100	160	100	3	20	1	13	0	1	2	0	0	0
2,5	886	373	14	64	46	16	70	200	80	120	90	140	150	1	0	1	12	4	1	1	0	0	0
7,5	888	403	14	64	46	10	90	150	50	100	180	220	100	3	0	2	12	1	2	1	0	0	0
5	889	360	14	64	46	9	40	90	30	60	180	170	90	4	60	4	10	2	2	4	0	0	0
0	890	385	14	64	46	11	110	100	40	60	120	150	70	1	90	3	8	0	3	1	0	0	0
2,5	897	373	14	64	46	13	20	100	10	90	90	120	70	5	90	3	7	0	4	0	0	0	0
5	898	301	14	64	46	10	20	130	60	70	120	160	90	2	50	3	14	0	5	0	0	0	0

Continuação do Apêndice 1

7,5	899	338	14	64	46	9	60	140	120	20	140	180	100	5	40	2	6	0	3	0	0	0	0
0	900	316	14	64	46	9	50	230	70	160	60	180	110	7	0	1	13	0	4	0	0	0	0
2,5	901	316	14	64	46	6	20	70	30	40	170	140	100	3	110	2	11	0	1	0	0	0	0
5	902	311	14	64	46	6	50	220	120	100	140	260	90	3	10	2	8	1	0	0	0	0	0
7,5	904	290	14	64	46	8	10	210	60	150	90	200	70	1	40	1	6	0	1	1	0	0	0
0	906	275	14	64	46	6	0	220	140	80	40	190	70	0	110	2	1	0	1	0	0	0	0
0	909	301	14	64	46	8	30	140	20	120	80	80	140	0	130	3	10	0	5	2	0	0	0
0	825	526	30	59	46	12	50	140	30	110	160	240	60	3	20	2	1	4	0	0	3	0	0
2,5	827	622	30	59	46	4	40	150	50	100	240	290	100	0	30	1	0	0	1	0	1	0	0
5	844	570	30	59	46	13	30	130	80	50	140	230	40	2	30	2	0	2	0	0	2	0	0
7,5	846	504	30	59	46	13	100	60	20	40	180	190	50	2	30	3	0	2	2	1	0	1	0
0	850	577	30	59	46	13	40	80	0	80	150	160	70	5	40	2	0	0	0	2	0	0	0
2,5	851	511	30	59	46	14	50	50	50	0	130	170	20	3	100	3	1	2	0	1	0	0	0
5	853	592	30	59	46	10	20	170	0	170	140	210	110	0	10	3	1	1	0	4	0	1	0
7,5	854	555	30	59	46	11	30	90	90	0	140	180	50	0	100	3	0	3	0	2	0	0	0
0	859	483	30	59	46	13	20	150	70	80	120	170	90	1	20	3	0	0	1	0	0	1	0
2,5	860	476	30	59	46	16	20	110	0	110	120	140	80	3	40	3	1	1	1	3	0	0	0
5	861	416	30	59	46	7	20	120	120	0	130	200	50	4	90	1	0	0	0	0	0	1	0
7,5	866	442	30	59	46	12	30	90	0	90	100	110	80	2	130	1	0	0	0	0	0	0	0
0	870	462	30	59	46	12	40	110	50	60	180	210	80	1	30	2	1	0	2	1	0	0	0
2,5	871	455	30	59	46	8	60	110	20	90	200	270	40	6	30	3	3	1	0	3	0	0	0
5	873	372	30	59	46	6	20	130	60	70	140	230	40	3	100	2	0	1	1	2	0	0	0
7,5	877	455	30	59	46	11	0	110	0	110	200	270	40	4	30	1	0	0	0	2	0	0	0
0	878	410	30	59	46	12	10	60	0	60	270	190	140	1	20	2	0	0	1	0	0	0	0
2,5	882	379	30	59	46	14	20	130	80	50	80	160	50	3	70	1	1	1	1	1	0	1	0

Continuação do Apêndice 1

5	883	429	30	59	46	12	0	150	90	60	90	150	90	2	80	2	1	0	1	0	0	0	0
7,5	884	410	30	59	46	9	20	110	40	70	150	230	30	5	50	1	0	1	0	6	0	1	0
0	885	435	30	59	46	14	30	100	100	0	140	180	60	0	70	2	0	2	0	4	0	0	0
2,5	886	373	30	59	46	14	30	130	30	100	100	190	50	4	60	2	0	0	3	3	0	0	0
7,5	888	403	30	59	46	9	50	150	60	90	130	170	110	4	50	3	0	1	2	3	0	0	0
5	889	360	30	59	46	9	10	120	120	0	170	250	0	3	50	2	1	0	2	1	0	0	4
0	890	385	30	59	46	8	20	160	100	60	70	170	50	3	130	1	1	0	0	1	0	1	0
2,5	897	373	30	59	46	7	10	160	40	120	110	220	50	2	100	1	0	0	0	1	0	0	0
5	898	301	30	59	46	6	50	150	70	80	160	230	80	4	60	2	2	0	1	0	0	0	0
7,5	899	338	30	59	46	6	10	130	120	10	210	240	70	4	30	1	4	0	1	1	0	0	3
0	900	316	30	59	46	6	30	120	10	110	200	280	40	3	50	1	2	1	2	0	0	0	0
2,5	901	316	30	59	46	6	10	160	70	90	140	190	80	1	70	2	1	0	1	1	0	0	4
5	902	311	30	59	46	7	20	190	110	80	110	250	50	1	80	2	0	0	0	1	0	0	0
7,5	904	290	30	59	46	3	20	170	70	100	160	330	20	0	70	2	2	0	0	1	0	1	0
0	906	275	30	59	46	5	0	170	150	20	80	200	50	0	140	2	0	0	1	1	0	0	0
0	909	301	30	59	46	5	30	140	120	20	160	210	80	3	70	2	0	0	1	2	0	0	0
0	825	526	46	55	46	13	10	30	10	20	210	220	20	2	30	7	2	2	0	5	0	0	0
2,5	827	622	46	55	46	9	20	40	40	0	200	200	40	2	40	9	0	0	0	0	0	0	0
5	844	570	46	55	46	9	20	70	50	20	180	180	70	2	60	8	0	0	0	1	0	0	0
7,5	846	504	46	55	46	17	70	50	0	50	150	150	50	0	50	4	0	2	0	1	0	0	0
0	850	577	46	55	46	14	70	60	40	20	190	170	70	2	20	2	0	1	0	3	1	0	0
2,5	851	511	46	55	46	15	20	50	0	50	110	110	50	1	70	8	0	0	2	0	1	0	0
5	853	592	46	55	46	13	40	70	20	50	190	170	80	2	10	5	0	0	0	0	0	0	0

Continuação do Apêndice 1

7,5	854	555	46	55	46	16	50	60	10	50	150	110	100	1	60	2	0	0	0	1	0	0	0
0	859	483	46	55	46	14	10	70	30	40	140	190	20	2	70	6	0	0	0	1	1	0	0
2,5	860	476	46	55	46	17	0	70	30	40	150	140	80	1	40	2	0	0	0	0	1	0	0
5	861	416	46	55	46	8	30	80	60	20	190	190	80	1	80	2	1	1	1	1	1	0	0
7,5	866	442	46	55	46	11	30	90	40	50	170	200	60	2	60	2	0	0	0	2	0	1	0
0	870	462	46	55	46	14	10	60	0	60	180	170	70	1	60	1	0	1	2	0	1	0	0
2,5	871	455	46	55	46	11	10	70	70	0	190	180	70	0	60	3	0	0	1	0	1	0	0
5	873	372	46	55	46	10	20	50	0	50	210	210	40	0	80	3	0	0	0	0	1	0	0
7,5	877	455	46	55	46	6	0	140	0	140	170	230	80	1	30	5	10	2	0	0	0	0	0
0	878	410	46	55	46	13	10	80	10	70	190	170	100	0	30	2	5	0	1	0	1	0	0
2,5	882	379	46	55	46	8	40	100	50	50	160	220	40	1	60	6	1	0	3	2	1	0	0
5	883	429	46	55	46	11	0	50	0	50	200	160	90	1	60	1	1	0	0	2	1	1	0
7,5	884	410	46	55	46	4	10	0	0	0	250	230	0	7	70	4	3	6	2	1	1	0	0
0	885	435	46	55	46	13	20	50	0	50	140	110	50	2	70	8	0	1	0	0	1	0	0
2,5	886	373	46	55	46	14	60	80	40	40	140	130	90	0	60	4	0	1	0	2	1	0	0
7,5	888	403	46	55	46	11	50	120	50	70	120	140	100	2	70	2	7	1	1	0	1	0	0
5	889	360	46	55	46	8	0	50	50	0	230	230	50	0	70	3	1	1	0	0	0	0	0
0	890	385	46	55	46	10	30	30	0	30	220	230	20	1	70	3	2	0	1	1	1	0	0
2,5	897	373	46	55	46	13	10	110	90	20	120	200	30	2	40	4	4	0	0	0	1	0	0
5	898	301	46	55	46	9	10	20	0	20	270	230	60	2	60	3	4	0	1	0	1	0	0
7,5	899	338	46	55	46	7	0	80	80	0	180	220	40	1	80	4	0	0	0	0	1	0	0
0	900	316	46	55	46	6	10	70	40	30	240	280	30	0	70	1	4	1	1	0	1	0	0
2,5	901	316	46	55	46	6	0	80	80	0	230	240	60	2	60	1	1	0	0	2	0	1	0
5	902	311	46	55	46	11	60	70	40	30	200	190	80	2	50	2	1	0	3	1	0	0	0

Continuação do Apêndice 1

7,5	904	290	46	55	46	8	0	160	70	90	120	240	40	1	80	1	0	0	0	0	1	0	0
0	906	275	46	55	46	6	0	50	20	30	250	200	90	2	80	1	1	0	0	3	0	1	0
0	909	301	46	55	46	6	10	40	10	30	250	280	10	1	80	1	1	0	2	0	1	0	0

APÊNDICE 2 - Variáveis comportamentais coletadas durante o período diário, sendo dois dias de avaliação.

Tratamento	Número do Animal	Peso Inicial	THI	Dia	Medida	Visita ao cocho	Permanência no galpão	Decúbito Total	Decúbito Direito	Decúbito Esquerdo	Estação	Ócio	Ruminação	Caminhada	Pastejo	Ingestão de água	Sombra Natural	Dominante	Submissa	Coça/lambe colegas	Corrida	Comer terra	Coça/lambe árvore
0	825	526	62	35/36	176	14	80	1100	520	580	460	1110	430	4	50	2	0	1	1	5	0	0	0
2,5	827	622	62	35/36	176	11	90	1050	560	490	510	850	700	2	90	2	0	1	0	0	0	1	0
5	844	570	62	35/36	176	15	10	970	450	520	400	770	600	7	140	2	0	5	0	0	0	0	0
7,5	846	504	62	35/36	176	19	60	1080	480	600	400	840	620	2	10	3	0	1	1	2	0	1	0
0	850	577	62	35/36	176	15	10	1030	550	480	400	860	570	0	80	2	0	0	1	2	0	1	0
2,5	851	511	62	35/36	176	17	30	1040	370	670	440	950	520	3	90	3	0	0	0	0	0	0	0
5	853	592	62	35/36	176	16	130	1040	490	550	390	970	450	3	0	3	0	2	0	5	0	1	0
7,5	854	555	62	35/36	176	17	100	1030	370	660	480	850	650	3	60	3	0	1	0	3	0	1	0
0	859	483	62	35/36	176	14	50	1060	520	540	510	1070	490	1	30	2	0	1	1	6	0	0	0
2,5	860	476	62	35/36	176	15	90	990	400	590	430	950	460	1	160	3	0	2	0	3	0	1	0
5	861	416	62	35/36	176	12	10	910	380	530	320	820	410	4	220	1	0	1	0	3	0	0	0
7,5	866	442	62	35/36	176	11	10	950	400	550	460	1020	390	5	200	3	0	0	0	3	0	0	0
0	870	462	62	35/36	176	13	50	1100	520	580	420	1020	500	3	80	2	0	0	2	3	0	0	0
2,5	871	455	62	35/36	176	12	10	660	210	450	560	880	340	17	70	2	0	2	1	3	0	0	0
5	873	372	62	35/36	176	11	0	1070	390	680	320	880	510	6	200	2	0	0	0	4	0	1	0
7,5	877	455	62	35/36	176	12	10	810	140	670	480	960	310	4	20	2	0	2	0	4	0	2	0
0	878	410	62	35/36	176	16	30	690	110	580	480	830	340	5	80	5	0	1	2	3	0	0	0
2,5	882	379	62	35/36	176	14	10	890	250	640	380	780	470	5	80	2	0	1	0	5	0	1	0
5	883	429	62	35/36	176	14	20	1170	600	570	350	1050	460	1	60	2	0	0	2	6	0	1	0
7,5	884	410	62	35/36	176	17	20	840	410	430	340	920	260	4	120	3	1	1	0	4	0	1	0

Continuação do Apêndice 2

0	885	435	62	35/36	176	15	60	820	370	450	420	850	390	5	130	1	0	3	3	1	0	1	0
2,5	886	373	62	35/36	176	13	20	960	440	520	490	850	590	5	70	2	0	0	1	4	0	2	0
7,5	888	403	62	35/36	176	13	40	950	400	550	480	880	530	5	70	2	0	1	0	1	0	1	0
5	889	360	62	35/36	176	18	20	780	380	400	450	900	330	5	130	3	9	1	2	0	0	0	0
0	890	385	62	35/36	176	13	10	1020	550	470	390	830	580	4	160	1	0	1	1	0	0	0	0
2,5	897	373	62	35/36	176	13	10	1150	660	490	300	1010	440	2	150	3	1	0	0	2	0	0	0
5	898	301	62	35/36	176	11	20	1010	370	640	510	1050	460	4	130	2	1	2	3	1	0	0	0
7,5	899	338	62	35/36	176	11	0	1030	570	460	280	800	500	6	130	0	0	1	0	1	0	1	0
0	900	316	62	35/36	176	12	20	920	330	590	400	860	450	7	100	3	0	0	0	1	0	0	0
2,5	901	316	62	35/36	176	11	20	290	80	210	800	860	180	26	170	1	0	1	4	7	0	0	0
5	902	311	62	35/36	176	13	0	1070	520	550	310	910	450	5	180	1	0	0	0	1	0	2	0
7,5	904	290	62	35/36	176	11	0	890	470	420	380	920	320	6	150	1	0	0	0	5	0	0	0
0	906	275	62	35/36	176	11	0	970	380	590	400	870	500	3	250	2	0	0	3	3	0	0	0
0	909	301	62	35/36	176	12	0	870	410	460	450	810	500	6	240	3	0	2	4	4	0	1	0
0	825	526	56	44/45	146	17	30	790	490	300	430	900	310	2	40	3	0	3	2	4	0	0	0
2,5	827	622	56	44/45	146	11	40	760	340	420	490	760	480	5	40	1	0	0	1	2	0	0	0
5	844	570	56	44/45	146	17	20	860	330	530	370	740	490	5	0	2	0	4	0	4	0	0	0
7,5	846	504	56	44/45	146	20	0	860	510	350	320	610	570	4	30	2	0	1	0	2	0	0	0
0	850	577	56	44/45	146	18	40	820	400	420	330	680	470	5	50	3	0	2	0	1	0	0	0
2,5	851	511	56	44/45	146	20	50	750	410	340	400	720	430	4	30	3	0	2	0	0	0	0	0
5	853	592	56	44/45	146	13	90	920	490	430	340	890	360	5	0	5	0	1	1	1	0	0	0
7,5	854	555	56	44/45	146	19	50	800	290	510	370	570	600	5	10	3	0	1	1	2	0	0	0
0	859	483	56	44/45	146	21	10	840	500	340	380	840	380	3	0	5	0	2	0	3	0	0	0
2,5	860	476	56	44/45	146	7	10	580	310	270	570	820	320	10	50	2	0	0	0	8	0	0	0

Continuação do Apêndice 2

5	861	416	56	44/45	146	11	10	650	330	320	560	860	350	4	80	2	0	1	0	0	0	0
7,5	866	442	56	44/45	146	20	0	820	370	450	370	760	430	4	30	0	0	0	1	2	0	0
0	870	462	56	44/45	146	16	10	790	300	490	370	730	420	5	70	4	0	0	0	1	0	0
2,5	871	455	56	44/45	146	15	20	860	510	350	350	710	500	4	40	3	0	0	1	4	0	1
5	873	372	56	44/45	146	11	10	830	460	370	330	670	490	3	140	3	0	1	0	2	0	0
7,5	877	455	56	44/45	146	11	0	670	450	220	590	810	440	4	20	6	0	1	0	1	0	0
0	878	410	56	44/45	146	11	0	890	390	500	360	660	580	4	30	6	0	0	0	0	0	0
2,5	882	379	56	44/45	146	15	40	900	380	520	280	550	630	5	40	4	1	2	0	4	0	0
5	883	429	56	44/45	146	18	10	830	440	390	380	740	470	2	20	2	0	1	1	4	0	0
7,5	884	410	56	44/45	146	15	0	800	170	630	370	720	450	7	60	2	1	1	0	6	0	0
0	885	435	56	44/45	146	17	30	830	510	320	310	640	490	3	100	1	0	0	1	2	0	0
2,5	886	373	56	44/45	146	14	20	700	500	200	420	500	610	6	110	1	0	2	2	2	0	0
7,5	888	403	56	44/45	146	14	40	820	420	400	370	590	530	6	50	4	0	1	0	4	0	0
5	889	360	56	44/45	146	13	10	610	330	280	520	880	220	4	120	3	0	0	1	2	0	1
0	890	385	56	44/45	146	17	0	720	610	110	390	800	270	6	80	6	0	0	2	4	0	1
2,5	897	373	56	44/45	146	12	20	860	410	450	360	640	580	4	80	3	1	1	2	3	0	1
5	898	301	56	44/45	146	15	10	780	340	440	390	640	530	5	50	4	0	1	3	4	0	0
7,5	899	338	56	44/45	146	10	0	890	410	480	380	760	510	2	50	1	0	0	0	0	0	1
0	900	316	56	44/45	146	11	10	550	180	370	560	750	360	16	20	3	0	0	2	7	0	0
2,5	901	316	56	44/45	146	12	0	850	560	290	410	750	500	2	50	3	0	0	1	0	0	1
5	902	311	56	44/45	146	11	0	850	480	370	340	740	450	3	130	0	1	0	0	0	0	1
7,5	904	290	56	44/45	146	12	10	940	220	720	260	840	360	3	90	1	0	0	3	0	0	0
0	906	275	56	44/45	146	11	0	840	280	560	360	820	340	2	130	2	0	0	0	0	0	1
0	909	301	56	44/45	146	12	30	690	280	410	380	700	370	9	160	2	0	0	2	2	0	0

APÊNDICE 3 – Instruções aos autores

animal
An International Journal of Animal Bioscience

Instructions for authors
Last updated November 2013

Introduction

animal – an International Journal of Animal Bioscience (*animal*) is published in English in one volume of 12 issues per year, as a printed journal and in electronic form. Additional special issues may also be produced. No page charges are required from the authors (the Open Access option requires payment of an article processing fee: see below).

animal attracts the best research in animal biology and animal systems from across the spectrum of the agricultural, biomedical, and environmental sciences; it is the central element in a collaboration between the British Society of Animal Science (BSAS), the Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) and the European Federation for Animal Science (EAAP) and represents the merger in 2006 of three scientific journals: *Animal Science*; *Animal Research*; *Reproduction, Nutrition, Development*.

Scope

animal publishes original, cutting-edge research and horizon-scanning reviews on animal-related aspects of the life sciences at the molecular, cellular, organ, whole animal and production system levels. Papers will be considered in aspects of both strategic and applied science in the areas of Animal Breeding and Genetics, Nutrition, Physiology and Functional Biology of Systems, Behaviour, Health and Welfare, Livestock Farming Systems and Environment, and Product Quality, Human Health and Well-being. Emphasis is placed on **managed animals** and on the integrative nature of biological systems. The use of laboratory animal models for the benefit of farmed livestock is within the scope. Studies using farm animals with the aim of improving human health are also acceptable but they must also indicate benefits to farmed livestock. Wild animals which are marginally bred in a few countries or which could be bred in the future, and wild animals raised in captivity are not considered as farm animals. Papers dealing with the translation of basic and strategic science into whole animal and system impacts on Productivity, Product Quality, the Environment and Humans (health, nutrition and well being) will be particularly welcome. Papers should also be of **international relevance**, appeal to an international readership and then **not limited to national or regional conditions**. The full **scope of the journal** is available on <http://www.animal-journal.eu/scope.htm> and should be consulted before submitting a paper.

animal is essential reading for all animal scientists interested in biochemistry, microbiology, nutrition, physiology, modelling, genetics, behaviour, immunology, epidemiology, engineering, economics, sociology, food science and technology, human health, farming systems, and land-use management, environmental impact and climate change.

Type of articles

animal publishes different types of articles:

Full research papers which correspond to a full account of a complete project. The approach can be experimental or theoretical, provided the work has been carried out in a systematic way. Routine studies, descriptive experiments without an experimental design controlled by the author, papers based on repetition of published experiments with other breeds, or in other geographical conditions are discouraged. Papers presenting a detailed description of a new technique are within the scope and are encouraged. Comparison of existing methods is considered, provided similar comparisons have never been published. Full papers, including meta-analyses, should be comprehensive and should include an in-depth discussion. Papers in a numbered series are not accepted unless all are presented at the same time. The maximum length including references, tables and figures must not exceed 9 journal pages; this represents approx. 7,000 words as text plus tables (and 2-3 figures in addition). More than 8 tables plus figures are discouraged. For guidance, 7,000 words correspond to approx. 25-28 pages of text plus tables written in font Arial 12, double spacing, 2.5 cm margins. Large tables are discouraged in the manuscript but they may be submitted as Supplementary Material (see below). Manuscripts that are too long will be sent back to the author. A style sheet summarizing these indications is available on our website.

Short communications will only be accepted in special cases where, in the Editor's judgement, the contents are exceptionally exciting, novel or timely. Partial data or complete studies with a very limited amount of results will not be considered as short communications. The maximum length should not exceed 4 journal pages (approx. 3,000 words) including a maximum of 3 tables and/or figures and a maximum of 10 references. These short communications will be peer-reviewed in the same way as full papers. Very short publications which are not considered as short communications by the editorial board will be handled as full papers.

Review papers can be invited or unsolicited. They have to be contemporary and comprehensive, and add information to published reviews on the same topic. When relevant, a statistical analysis of data and a meta-analysis approach are recommended. Mini-reviews on limited topics are accepted. The maximum length is 12 journal pages (approx. 9,500 words as text plus tables; and 3-4 figures in addition). More than 10 tables plus figures are discouraged. For guidance, 9,500 words correspond to approx. 35-38 pages of text plus tables written in font Arial 12, double spacing, 2.5 cm margins. Manuscripts that are too long will be sent back to the author. As for full research papers, supplementary material can be proposed.

□ **Conference/Symposia papers**

The journal will consider for publication the results of original work and critical reviews that are presented at conferences/symposia. Acceptance of such papers will be subject to:

- * the content being within the scope of the journal's interests
- * the journal's standard peer review process
- * reports of original work; the papers being full reports; short abstracts or reports of incomplete work will not be considered
- * symposium organisers agreeing to comply with the journals standards of acceptance.

Symposium organisers who intend to publish papers from the symposium in *animal* should first contact Sarah Maddox from Cambridge University Press (smaddox@cambridge.org) for information on the management of these papers. If the papers do not fit the requested conditions for publication in *animal*, the papers may be referred to *Advances in Animal Biosciences*, a companion publication of *animal* published by Cambridge University Press, for consideration for publication. If papers are accepted for publication in *animal*, subject to the Editor-in-Chief's discretion, they will be published either within the normal issues of the journal or as a special issue. The number of pages allocated to symposia papers will also be at the discretion of the Editor-in-chief and the Series Editor in consultation with symposium organisers and may be lower than the number of pages normally allocated to full research papers.

Book reviews are not accepted. Letters to the editors may be published when the Editor-in-Chief believes that an exceptional topic has been raised that warrants debate through this medium.

Submitted manuscripts should not have been published previously, except in a limited form (e.g. short communication to a symposium), part of MSc or PhD theses, and should not be under consideration for publication by other journals. Papers of which most of the content has previously been published in another language will not be considered for publication in *animal*. All co-authors should agree with the content of the manuscript. Authors should have obtained permission to use any copyrighted material in the manuscript prior to submission. The work described in the manuscript must comply with ethical guidelines available on the website http://www.animal-journal.eu/ethical_policy.htm.

Recommendations for preparation of papers

The responsibility for the preparation of a paper in a form suitable for publication lies in the first place with the author. Authors should consult a free issue or a free article of *animal*, available at <http://journals.cambridge.org/anmsample>, in order to make themselves broadly familiar with the layout and style of *animal*. The English must be acceptable for publication. If the English is not good enough, editors may ask for a linguistic revision by a third-party service at any stage of the review process and at the author's cost. The copyeditor will check and correct minor grammatical errors and journal styles in the accepted manuscripts, but he will not perform language editing. A variety of third-party

services specialising in language editing and/or translation can be found here: <http://journals.cambridge.org/action/stream?pageld=8728&level=2&menu=Authors&pageld=3608>. Manuscripts should be prepared using a standard word processing program, presented in a clear, readable format with easily identified sections and headings and typed with double-line spacing with wide margins (2.5 cm). The use of small paragraphs with less than 8 lines must be minimised. The lines must be continuously numbered (on left side); the pages must also be numbered. Font Arial 12 should be used for the text, and Arial 11 for tables and references, in order to easily evaluate manuscript length. The typographical and other conventions to be adopted are set out below. A style sheet is available on our website in order to help the authors to organise their manuscript and to comply with animal style format. Manuscripts which do not follow the below mentioned conventions will be sent back to the author.

Title

A title needs to be concise and informative. It should:

- (a) arrest the attention of a potential reader scanning a journal or a list of titles;
- (b) provide sufficient information to allow the reader to judge the relevance of a paper to his/her interests and whether it will repay the effort of obtaining a copy;
- (c) incorporate keywords or phrases that can be used in indexing and information retrieval, especially the animal species on which the experiment has been carried out;
- (d) avoid inessentials such as 'A detailed study of ...', or 'Contribution to ...';
- (e) not include the name of the country or of the region where the experiment took place;
- (f) be shorter than 170 characters including spaces.

Authors and affiliation

The names and affiliations of the authors should be presented as follows:

J. Smith^{1,a}, P.E. Jones², J.M. Garcia^{1,3} and P.K. Martin Jr²

1Department of Animal Nutrition, Scottish Agricultural College, West Main Road, Edinburgh EH9 3JG, UK

2Animal Science Department, North Carolina State University, Raleigh, NC 27695-7621, USA

3Laboratorio de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, C. Miguel Servet, 177, 50013, Zaragoza, Spain

aPresent address: Dairy Science Laboratory, AgResearch, Private Bag 11008, Palmerston North, New Zealand (for any author of the list whose present address differs from that at which the work was done)

Corresponding author: John Smith. E-mail: John.Smith@univ.co.uk

The corresponding author indicated in the manuscript who will be the correspondent for a published paper can be different from the corresponding author who submits and manages the manuscript during the review process; the latter corresponding author will need to be registered on Editorial Manager.

Running head

Authors should propose a running head of no more than 50 characters. If the proposed running head is not appropriate, it could be modified by the Editorial Office, with the author's agreement.

Abstract

Every paper should have a **one-paragraph abstract** of not more than 400 words which is complete and understandable without reference to the paper. It should state succinctly the problem, the experimental methods, results and conclusions but should not be overburdened by numerical values or probability values. References to tables and figures, and undefined abbreviations are not acceptable.

Keywords

Up to a maximum of five keywords selected from CAB Thesaurus (1995) or from an equivalent volume should be selected. Keywords are essential in information retrieval and should be indicative of the content of the paper (animal species, etc.). If the proposed keywords are not appropriate, the manuscript will be returned to the authors. The use of non-standard abbreviations in the list of keywords is discouraged.

Implications

Authors must write maximum 100 words explaining the implications of their work. Implications explain the expected importance or economic, environmental and/or social impact. This must be in simple English suitable for non science readers. This section is mandatory and will be peer-reviewed.

Introduction

The Introduction should briefly present the current issues that the authors are addressing while outlining the context of the work, ensuring that the objectives are clearly defined, and that the main features of the experiment or of the work are clear to the reader. Increasing the knowledge on a subject is not an objective *per se*. References in the Introduction should be limited as it should not be a preliminary discussion or a literature review.

Material and methods

Material and Methods should be described in sufficient detail within this section, so that it is possible for others to repeat the experiment. If the methods are numerous, authors should refer to one of their previous publications in which they are described in detail.

If a proprietary product is used as a source of material in experimental comparisons, this should be described using the appropriate chemical name. If the trade name is helpful to the readers, provide it in parentheses after the first mention. Authors who have worked with proprietary products, including equipment, should ensure that the manufacturers or suppliers of these products have no objections to publication if the products, for the purpose of experimentation, were not used according to the manufacturer's instructions.

Results - Discussion

They can be presented together (Results and Discussion) or in 2 different sections (Results followed by Discussion). Conventions for presenting these sections or the Materials and Methods section (sub-headings, etc.) are presented later in this document.

Statistical treatment of results

A statistical guide for authors is available on the website at http://www.animal-journal.eu/statistical_instructions.htm. The methods and models of statistical analysis must be indicated and sufficient statistical details given to allow replication of the experiment. Where reference is made to statistical significance, the level of significance attained should normally be indicated by using the following conventional standard abbreviations (which need not be defined): $P > 0.05$ for non-significance and $P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.001$ for significance at these levels. In tables, levels of significance should be indicated by *, ** and *** respectively. Statistical significance (e.g. $P = 0.07$) can also be used in the text or tables. **Treatment means should normally be given without their standard deviation** (i.e. variability in a sample or a population). An indicator of the precision of the measure such as the pooled standard error, the residual standard deviation (RSD) or the root mean square error (RMSE) should be given for each criteria/item/variable/trait in an additional column (or line). Differences between treatments (or comparison of mean values) will be indicated using the following conventional standard: a, b for $P < 0.05$; A, B for $P < 0.01$; in most cases, the 0.05 level is sufficient.

Tables

These should be as simple and as few as possible. The same material should not normally be presented in tabular and graphical form. When both forms are possible, authors should present tables. Generally, variables are in rows and treatments in columns. In designing tables, authors should refer to the page size and column widths of *animal* as guidance. Each table should be typed, preferably in double spacing, on a page separate from the main body of the text (one table per page) and an indication given in the text where it should be inserted. Tables which are created in Word should not use tabs but should use the table function within the programme. Tables should not be prepared with vertical lines between columns and horizontal lines between rows of data. Tables should be given Arabic numbering and each should have its own explanatory title, footnotes and definitions of abbreviations which are sufficient **to permit the table to be understood without reference to the text** ("Effect of fat source and animal breed on carcass composition in pigs" is preferred to "Carcass composition"). The title should not contain too many details about the protocol, the definition of abbreviations, etc. Such details are preferred as footnotes. All tables must be cited consecutively in the text. Column headings should be concise and units should be clearly stated using standard abbreviations; any non-standard abbreviation should be defined. Only the first letter of the first word is in capitals. Sub-items describing the data in the rows should be indented relative to crossheadings; where they involve printing on more than one line, they should be indented in the second and subsequent

lines. Sub-sub-items should also be indented. Footnotes should be used sparingly and kept brief. They must provide the bases for statistics (levels of significance, statistical model, etc.). The reference symbols used in footnotes are numbers in low cases. The values in the tables should be given with meaningful decimals; practically, the last digit should correspond to about one tenth of the standard error. The number of decimals for mean treatment values and the corresponding indicator of residual variability (RSD, SEM, RMSE, etc.) should be consistent in all the tables, either identical or one more for the variability indicator, but not both possibilities. Values such as efficiencies or digestibilities are preferred as percentages.

Figures

It is recommended that the width of any diagram submitted should be either 175 mm (2 columns) or 83 mm (1 column) including the legend at the side(s). In choosing ornaments, solid symbols should be used before open symbols, and continuous lines before dotted or dashed lines. The size of symbols should be appropriate (neither too small nor too big and clumsy). The use of colour in figures should be avoided, unless it is essential to understanding the figure. Figures are then usually supplied as black and white and as one file per figure. Colour figures are reproduced at no cost to the author for the on-line version. But the authors are liable to cover the **additional costs for printing figures in colour**. Publication charges can be found at http://www.animal-journal.eu/documents/Reprints_cost.pdf. All figures must be numbered consecutively in the text. **Captions for all figures should be typed on a separate page** at the end of the manuscript and should be sufficiently detailed to allow the figure to be understood without reference to the text; figures are submitted without their captions. An indication of where a figure should appear should be given within the text. Diagrams and plates are referred to within the text as Figure 1, etc., and the captions begin with Figure 1, etc. For details of submission requirements, refer to section on 'Submission and evaluation of the manuscript'.

Acknowledgements

In this section, the authors may acknowledge (briefly) their support staff, their funding sources, their credits to companies or copyrighted material, etc. All papers with a potential conflict of interest must include a description/explanation under the Acknowledgements heading

References

It is the author's responsibility to ensure that all references are correct. The references should adhere to the guidelines, be relevant to the text content and they should all be cited in the text. The maximum number of references is 10 for short communications, 35 for original articles and 50 for review papers, except when the editor agrees a higher number. No more than 3 references can be given for the same statement (except for reviews and meta-analyses). Authors should minimise the number of references to conference proceedings, reports, PhD theses, and other references which cannot easily be obtained by the reader. The accuracy of the references is the responsibility of the authors.

Authors should carefully check authors' surnames and first names, article title, journal title, volume and page numbers, book publisher's information, proceedings exact description. Literature cited should be listed in alphabetical order of authors and references should not be numbered. For a same first author, the rank of references will be i) publications with one author ranked by year; ii) publications with two authors ranked by year; iii) publications with more than two authors ranked by year then, if necessary, by alphabetical order of the second author.

Typical references are:

Journal article or abstract:

Format: Author(s) surname and Initials Year. Title. Full title of the journal volume, pages. The issue within the volume is not mentioned, except if the numbering is per issue and not per volume (ex: newspapers). The word 'abstract' if applicable is not mentioned. Titles which cannot be written in Latin characters will be translated in English, followed by (in xxx) where xxx is the original language.

Examples:

Martin C, Morgavi DP and Doreau M 2010. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal* 4, 351-365.

Morgavi DP, Martin C, Jouany JP and Ranilla MJ 2012. Rumen protozoa and methanogenesis: not a simple cause-effect relationship. *British Journal of Nutrition* 107, 388-397.

When the article is online but not yet printed, the right format is:

Zamaratskaia G and Squires EJ. Biochemical, nutritional and genetic effects on boar taint in entire male pigs. *Animal*, doi:10.1017/S1751731108003674, Published online by Cambridge University Press 17 December 2008.

Book:

Format: Author(s) or editor(s) surname and Initials, or institution Year. Title, number of volumes if more than 1, edition if applicable. Name of publisher, place of publication (i.e. city, state (if applicable) and country).

Example: Association of Official Analytical Chemists 2004. Official methods of analysis, 2 vol., 18th edition. AOAC, Arlington, VA, USA.

Book chapter or edited conference proceedings:

Format: Author(s) surname and Initials Year. Title. In Title of the book or of the proceedings (eds followed by the editor(s)), volume number when applicable, pages. Name of publisher, place of publication (i.e. city, state (if applicable) and country).

For edited proceedings, it is not necessary to mention the date and place of the symposium.

Example: Nozière P and Hoch T 2006. Modelling fluxes of volatile fatty acids from rumen to portal blood. In *Nutrient digestion and utilization in farm animals* (eds E Kebreab, J Dijkstra, A Bannink, WJJ Gerrits and J France), pp. 40–47. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Report at an event (conference, meeting, etc) not included in a book or edited proceedings:

Format: Author(s) surname and Initials Year. Title. Nature of the event, date of the event (i.e. day month year), place of the event (i.e. city, state (if applicable) and country), pages or poster/article number (if applicable).

Examples:

Martuzzi F, Summer A, Malacarne M and Mariani P 2001. Main protein fractions and fatty acids composition of mare milk: some nutritional remarks with reference to woman and cow milk. Paper presented at the 52nd Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Budapest, 26-29 August 2001, Budapest, Hungary

Bispo E, Franco D, Monserrat L, González L, Pérez N and Moreno T 2007. Economic considerations of cull dairy cows fattened for a special market. In Proceedings of 53rd International Congress of Meat Science and Technology, 5-10 August 2007, Beijing, China, pp. 581–582.

Thesis:

Format: Author surname and Initials Year. Title. Type of thesis, University with English name, location of the University (i.e. city, state (if applicable) and country).

Example: Vlaeminck B 2006. Milk odd- and branched-chain fatty acids: indicators of rumen digestion for optimisation of dairy cattle feeding. Thesis PhD, Ghent University, Ghent, Belgium.

Website addresses can be used when no other reference is available. They should be presented as for standard references but, in addition, they should include the date when the document was retrieved:

Bryant P 1999. Biodiversity and Conservation. Retrieved on 4 October 1999, from <http://darwin.bio.uci.edu/~sustain/bio65/Titlepage.htm>

Citation of references

In the text, references with three or more authors should be cited on all occasions with the first author followed by *et al.* (**in italics**; e.g. Smith *et al.*). References with two authors should be cited in full on all occasions. Names of organizations used as authors (e.g. Agricultural and Food Research Council) should be written out in full in the list of references and on first mention in the text. Subsequent mentions may be abbreviated (e.g. AFRC). Ampersands (&) are not to be used. Multiple references should be as follows: Wright *et al.*, 1993 and 1994; Wright *et al.*, 1993a and 1993b. When several references are cited simultaneously, they should be ranked by chronological order (e.g. Smith *et al.*, 1995; Fabre *et al.*, 1996; Schmidt *et al.*, 1998; Fabre *et al.*, 1999).

'Personal communication' or 'unpublished results' should follow the name of the author in the text where appropriate. The author's initials but not his title should be included, and such citations are not needed in the reference list. Check that all of the references in the text are in the list of references and *vice versa*.

Bibliographic database softwares can be used. The output styles for Endnote, Procite and Reference Manager may be found on the journal website http://animal-journal.eu/instructions_to_authors.htm.

Supplementary material

Authors can include supplementary material in any type of text (full research paper, review paper, short communication, etc.). Supplementary material will appear only in the electronic version, and is not limited in length. It will be peer-reviewed along with the rest of the manuscript, but will not be copy-edited. **Authors are entirely responsible for its content and must check carefully the format and styles.** This supplementary material could contain original *modus operandi*, tables or figures which are not necessary for understanding the text within the main body of the paper, mathematical models, references of publications which are used, for example, in a meta-analysis and which do not appear in the text, or pictures improving the understanding of the text. The manuscript must stand alone without the supplementary material for those readers who will be reading the hard copy only. This should be submitted with the main manuscript in a **separate file** and identified as "Supplementary File – for Online Publication Only". Each figure should have its own title embedded in the figure (below). Supplementary material should be identified and mentioned in the main text as Supplementary Table S1, Supplementary Table S2, etc. for tables or Supplementary Figure S1, Supplementary Figure S2, etc. for figures or Supplementary Material S1, Supplementary Material S2, etc. for other material). For example: "The list of references used for the meta-analysis is given in Supplementary Material S1". A link to this on-line supplementary material will be included by the Production Editor at the proof preparation stage.

Typographical conventions and consistencies

Headings

As illustrated and detailed above and in the style sheet (see website), the *animal* convention is as follows.

(a) *Title* of the paper is in bold with only the first letter in capitals. Authors' names are in lower case with initial capitals and their addresses are in italics.

(b) *Main section headings* (Abstract, Introduction, Implications, Material and methods, Results, Discussion, Acknowledgement(s), References) are printed in bold throughout and placed by the left margin.

(c) *Subheadings* are italicized and only the initial letter is in capitals. The two classes are:

(i) side italics unpunctuated (shoulder headings);

(ii) italics, punctuated and text run-on (side headings).

The sequence is always (i) to (ii).

Abbreviations

When abbreviations are defined in the text, they should be written in bold capitals at first occurrence.

The abbreviations listed below do not require the full spelling.

ACTH	Adrenocorticotropic hormone
ADF	Acid detergent fibre
ADL	Acid detergent lignin

ADP	Adenosine diphosphate
ANOVA	Analysis of variance
ATP	Adenosine triphosphate
BLUP	Best linear unbiased prediction
BW	Body weight
CoA	Coenzyme A
CP	Crude protein
DNA	Deoxyribonucleic acid
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FSH	Follicle-stimulating hormone
GLC	Gas-liquid chromatography
GLM	General Linear Model
HPLC	High performance (pressure) liquid chromatography
IGF	Insulin-like growth factor
IR	Infrared
LH	Luteinising hormone
MS	Mass spectrometry
n	Number of samples
NAD	Nicotinamide adenine dinucleotide
NADP	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NADPH ₂	Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NDF	Neutral detergent fibre
NIRS	Near infrared spectrophotometry
PAGE	Polyacrylamide gel electrophoresis
PCR	Polymerase chain reaction
PMSG	Pregnant mare's serum gonadotropin
RNA	Ribonucleic acid
SDS	Sodium dodecyl sulfate
UV	Ultraviolet

The names of the chemicals do not need to be written out in full; chemical symbols are sufficient. Fatty acids are abbreviated using the following rules: cis-18:1 for the sum of cis octadecenoic acids. When isomers are described, the double bond positions are identified by numbering from the carboxylic acid end: c9,t11-18:2; iso-15:0. The terms “omega 3” and “omega 6” are banned and replaced by “n-3” and “n-6”, e.g. 18:3n-3. Trivial names can be used for the most known fatty acids (myristic, palmitic, oleic, linoleic, linolenic) and abbreviations in some cases: CLA for conjugated linoleic acids, EPA for eicosapentaenoic acid, DHA for docosahexaenoic acid. Chemical names and trivial names cannot be mixed in a same table.

Capitals

(a) Initial capitals are used for proper nouns, for adjectives formed from proper names, for generic names and for names of classes, orders and families.

(b) Names of diseases are not normally capitalized.

Italics

Use italics for:

- (a) titles of books and names of periodicals in the text;
- (b) authors' addresses;
- (c) subheadings (see above);
- (d) titles for tables (but not captions for figures);
- (e) most foreign words, especially Latin words, e.g. *ad hoc*, *ad libitum*, *et al.*, *in situ*, *inter alia*, *inter se*, *in vitro*, *per se*, *post mortem*, *post partum* but *no italics* for c.f., corpus luteum, e.g., etc., i.e., N.B., via
- (f) mathematical unknowns and constants;
- (g) generic and specific names;
- (h) letters or numbers in the text which refer to corresponding letters or numbers in an illustration;
- (i) letters used as symbols for genes or alleles e.g. *HbA*, *Tf D* (but not chromosomes or phenotypes of blood groups, transferrins or haemoglobins, e.g. HbAA, TfDD);
- (j) first occurrence of a special term;
- (k) repeated emphasis of a special term (use cautiously);
- (l) Latin names of muscles (but not of bones), e.g. *m. biceps femoris*.

Spelling

All papers must be written in English. Spelling may be in British or American English but must be consistent throughout the paper. Please refer to standard dictionaries e.g. Webster's, Collins, Concise Oxford for the correct spelling of words and to Fowler's Modern English Usage (3rd edition, edited by R.W. Burchfield, Oxford University Press) for usage. Care should be exercised in the use of agricultural terminology that is ill-defined or of local familiarity only.

Numerals

- (a) In text, use words for numbers zero to nine and figures for higher numbers. In a series of two or more numbers, use figures throughout irrespective of their magnitude.
- (b) Sentences should not, however, begin with figures.
- (c) For values less than unity, 0 should be inserted before the decimal point.
- (d) For large numbers in the text substitute 10ⁿ for part of a number (e.g. 1.6 10⁶ for 1 600 000).
- (e) To facilitate the reading of long numbers in tables, the digits should be grouped in three about the decimal sign but no point or comma should be used.
- (f) The multiplication sign between numbers should be a cross (x).
- (g) Division of one number by another should be indicated as follows: 136/273.
- (h) Use figures whenever a number is followed by a standard unit of measurement (e.g. 100 g, 6 days, 4th week).
- (i) Use figures for dates, page numbers, class designations, fractions, expressions of time, e.g. 1 January 2007; type 2.
- (j) Dates should be given with the month written out in full in the text and with the day in figures (i.e. 12 January *not* 12th January). Single non-calendar years should be written 2006/07; periods of two calendar years as 2006-07.
- (k) For time use 24-h clock, e.g. 0905 h, 1320 h.

Units of measurement

The International System of Units (SI) should be used. A list of units is found for example at <http://physics.nist.gov/cuu/Units/units.html>. Recommendations for conversions and nomenclature appeared in *Proceedings of the Nutrition Society*, **31**: 239-247, 1972. Some frequently used units which are not in the SI system are accepted: l for litre, ha for hectare, eV for electron-volt, Ci for curie. Day, week, month and year are not abbreviated.

A product of two units should be represented as N·m and a quotient as N/m (e.g. g/kg and not g.kg⁻¹), except in case of two quotients (e.g. g/kg per day and not g/kg/day).

Concentration or composition

Composition expressed as mass per unit mass or mass per unit volume should have as denominator the unit of mass, the kilogram, or the unit of volume, the litre. Values should thus be expressed as nanograms, micrograms, milligrams or grams per kilogram or per litre. The term *content* should not be used for concentration or proportion.

Statistical terms

chi square χ^2

coefficient of determination R^2

coefficient of variation CV

correlation

multiple R

sample coefficient r

degrees of freedom d.f.

expectation of mean square e.m.s.

least significant difference LSD

mean square m.s.

non-significant $P > 0.05$

probability P

$P < 0.05$, in tables use *

$P < 0.01$, in tables use **

$P < 0.001$, in tables use ***

regression coefficient b

root mean square error r.m.s.e.

standard deviation s.d.

standard error of difference s.e.d.

standard error of mean s.e.m.

standard error of estimate $S_{y.x}$

residual standard deviation r.s.d.

variance ratio F

Submission and evaluation of the manuscript

Manuscript submission is made electronically through *Editorial Manager* at www.animal-journal.eu, or directly via <http://www.editorialmanager.com/animal>. Any query to the Editorial Office should be addressed through this site. Authors can check the status of their manuscript using *Editorial Manager*. If the author is submitting on behalf of the corresponding author, either ensure that the

corresponding author has access to his/her email in order to approve the submission or change the corresponding author at a later stage.

Text, full tables and figure captions should be placed in the same file as the main manuscript (Arial 12 for the main text, Arial 11 for tables and references, double-spacing, 2.5 cm margins, continuous line numbering: see style sheet) and **each figure (without its caption) must be uploaded in a separate file**; at submission, it is convenient for further reviewing to "enter a description" of each figure (figure 1, figure 2a, etc.) in the appropriate box. The text, tables and figure captions must be submitted in RTF or DOC/DOCX format (PDF is not accepted).

The figures should preferably be provided as TIFF or EPS files at least at the maximum size of printing (i.e. 175 mm width for two columns). MS Excel, MS PowerPoint, AI and layered PSD (up to CS3) files are permitted, provided that figures have been originally created in these formats and that all the embedded artwork is at a suitable resolution.

Bitmap image resolutions that are acceptable for publication are:

- for line figures (e.g. graphs) – 1200 dpi at maximum publication size (175 mm width);
- for figures with different shadings (e.g. bar charts) – 600 dpi at maximum publication size;
- for half tones (e.g. photographs) – 300 dpi at maximum publication size.

If figures are to be printed in colour (cost for printing available at http://www.animal-journal.eu/documents/Reprints_cost.pdf), use CMYK (instead of RGB) colour mode preferably.

Authors are advised that although a figure may look correct on the screen or the printer of their computer, it may not be appropriate for reproduction in print. Files below 700kb are generally not appropriate for reproduction in print. Images from the internet are unacceptable, as most of them have a resolution of only 72 dpi.

For further information, please refer to the Cambridge Journals Artwork Guide, which can be found online at: <http://journals.cambridge.org/artworkguide>.

Authors who submit a manuscript have to provide, in addition to the manuscript:

- the type of article (full research paper, short communication, review, special issue paper);
- the section of the scope which is the most appropriate for their manuscript. (<http://www.animal-journal.eu/scope.htm>).

Authors must provide the names of at least 3 potential reviewers (2 for Short Communications), and give contact details. Reviewers should have no conflict of interest with the authors or the submission. They should not nominate reviewers who are their regular collaborators or who work in the same institution or university, and they should nominate **an international spread of reviewers**. The editorial board will use its discretion when selecting reviewers and the suggested reviewers may not be used. In case of established conflict of interest, authors should give the name of up to three scientists who they do not wish to review their manuscript. According to Copyright Transfer form, a conflict of

interest might exist if you have a competing interest (real or apparent) that could be considered or viewed as exerting an undue influence on you or on your contribution. Examples could include financial, institutional or collaborative relationships.

The editors of the journal are responsible for the scientific evaluation of papers. The work of the editors in each section of the journal is overseen by a section editor who in turn is responsible to the Editor-in-Chief. However, manuscripts can be rejected by the Editor in Chief or by the Section Editor if they do not comply with the specifications of the scope, of the type of articles, or of the recommendations for preparation of papers. The Editor in Chief or the Section Editor may reject manuscripts which do not have the required standard, or which present obvious errors or misinterpretation of results. The Editor-in-Chief or a member of the Editorial Office may also send back to the authors their manuscript for being in agreement with the instructions of *animal*. If the manuscript is not rejected at the initial screening stage after submission, it is handled by an Editor who sends it to two reviewers. After evaluation by the reviewers, if a new version is requested, this should be sent back to the Editorial Office within 60 days; otherwise, the manuscript is rejected and a revised version will be considered as a new manuscript. The evaluation and the decision are taken by the Editor, if necessary in consultation with the Section Editor and/or the Editor-in-Chief. Once a manuscript is scientifically acceptable, it is taken by the Editorial Office who contacts the author for final corrections, if figures are of low quality for printing or if references are inexact or incomplete. Authors should answer quickly to the Editorial Office.

The journal aims to reach a first decision on a paper within 70 days of submission. If an author does not receive a decision within 70 days, he may send a message within Editorial Manager using "send e-mail"; the message is directed to the Editorial Office, the Section Editor and the handling Editor. Any query to the Editorial Office prior to submission of papers (e.g. clarification of instructions to authors, to ask if paper is within the scope, etc.) should be addressed through questions@animal-journal.eu.

Proofs

Authors should not insert new matter into proofs, correct faults in the style, or alter the arrangement of their papers at this stage. However, any errors of fact or of logic that have escaped earlier notice must be corrected, even at this stage. Substantial changes will be made at the author's expense. Authors are advised to pay particular attention to checking scientific and proper names, numerical data, formulae, tables and illustrations. Whilst proof readers are competent in correcting proofs, the ultimate responsibility for the correction remains with the author. Indications for listing and sending back the corrections are attached to the proofs. When a complicated correction has to be made, it is better to write a note explaining in plain English what is wanted. ***Proofs must be sent back to the Publisher within 1 week of receipt.*** If this period is exceeded, the pdf proof will be proofed only by the Editorial Office without the author's corrections.

Copyright agreement

Authors are required formally to transfer copyright to the *animal* consortium. A form for this purpose may be downloaded at: <http://journals.cambridge.org/action/displayMoreInfo?jid=ANM&type=tc> and articles are not published until the completed form has been received by the Editorial Office. It should be made clear that signing the form does not put any limitation on the personal freedom of authors to use their own material contained in their article.

The authors must obtain a written permission to reproduce material that is owned by a third party (for example in review papers); they must also include the relevant credit in their paper. The written agreements have to be sent to the Editorial Office at submission of their manuscript.

Publication of the manuscript

A free PDF file will be emailed to the corresponding author; charges are made for colour figures that are reproduced in print and for offprints. The cost is available on the website at http://animal-journal.eu/documents/Reprints_cost.pdf. To facilitate earlier dissemination, articles are published online in *FirstView* with their doi number at www.journals.cambridge.org/anm ahead of being published as part of an issue. It should be stressed that ***no change in the paper, even quite minor, is possible when the paper is in the FirstView list.***

Cambridge Open option allows authors in *animal* the option to make their articles freely available to everyone, immediately on publication and after the payment of a fee. The Cambridge Open Option is only offered to authors upon acceptance of an article for publication and as such has no influence on the peer review or acceptance procedure. More information is available at: <http://journals.cambridge.org/action/displaySpecialPage?pageId=4576>.

4.4 VITA

Nome: Dejeni Maíra Panazzolo

Filiação: Ademar Panazzolo e Celda Panazzolo

Data de nascimento: 24/06/1990

Local do nascimento: Engenho Velho, RS, Brasil.

Iniciou os estudos na Escola Estadual de Ensino Fundamental Medeiros e Albuquerque de Constantina, completando o ensino fundamental na Escola Estadual de Ensino Médio Gottfried Thomas Westerich de Novo Xingu. Realizou o segundo grau na Escola Estadual de Ensino Médio São José de Constantina. Graduada em Zootecnia pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM/Cesnors) no ano de 2012. Ingressando no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) em 2013 sob orientação da Prof. Dra. Vivian Fischer, na área de Nutrição e Alimentação de Ruminantes.