

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

ESTUDO DO COMPORTAMENTO INGESTIVO EM SUÍNOS E CÃES

BRUNA CRISTINA KUHN GOMES
Médica Veterinária/UFPEL
Mestra em Ciência Animal/UFPEL

Tese apresentada como um dos requisitos à obtenção do grau de Doutor em
Zootecnia
Área de concentração Produção Animal

Porto Alegre (RS), Brasil
Março de 2020

CIP - Catalogação na Publicação

Kuhn Gomes, Bruna Cristina
Estudo do comportamento ingestivo em suínos e cães
/ Bruna Cristina Kuhn Gomes. -- 2020.
134 f.
Orientadora: Luciano Trevizan.

Coorientadora: Ines Andretta.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. controle. 2. nutrição. 3. precisão. 4. refeição.
I. Trevizan, Luciano, orient. II. Andretta, Ines,
coorient. III. Título.

Bruna Cristina Muhn Gomes
Mestre em Zootecnia

TESE

Submetida como parte dos requisitos
para obtenção do Grau de

DOUTORA EM ZOOTECNIA

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

Aprovada em: 27.09.2020
Pela Banca Examinadora

Luciano Trevizan
LUCIANO TREVIZAN
PPG Zootecnia/UFRGS
Orientador

Homologado em: 01/04/2020
Por

Daniel Proro Streit Jr.
DANIEL PRORO STREIT JR.
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia

Marcos Kipper da Silveira
Marcos Kipper
ELANCO

Ricardo de S. Vasconcellos
Ricardo de S. Vasconcellos
UEM

Luan Souza dos Santos
Luan Souza dos Santos
UFRJ

Andrea Machado Leal Ribeiro
Andrea Machado Leal Ribeiro
UFRGS

Carlos Alberto Bissanti
CARLOS ALBERTO BISSANTI
Diretor da Faculdade de Agronomia

Aos meus pais **Filomena e Wanderlei**,
Minhas irmãs **Ângela e Márcia**,
Minha sobrinha **Laura** e meu noivo **Laion** dedico este trabalho e todas as
conquistas que virão.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço à Deus **Jeová**, por ter dado força para prosseguir nessa jornada e por iluminar meu caminho.

Aos meus pais **Filomena Kuhn Gomes** e **Wanderlei Maciel Gomes** pelo amor, preocupação e apoio incondicional na minha trajetória. Com vocês aprendi os valores e princípios da vida. Amo infinitamente.

À **Ângela Kuhn Gomes** e **Márcia Kuhn Gomes**, minhas irmãs de sangue e coração. Obrigada por serem minha base das muitas das vezes em que parecia faltar o chão.

Meu amor **Laion Stella**, obrigada pelo amor, carinho e paciência. Sem o teu apoio esta caminhada seria ainda mais difícil.

Elenir Stella (Nica), obrigada pelo apoio nos momentos difíceis desta jornada. Foi fundamental para eu chegar aqui.

Ao meu orientador Prof. **Dr. Luciano Trevizan**, por seus ensinamentos, disponibilidade, e sabedoria em me orientar. Obrigada pelas lições.

À minha co-orientadora Profa. Dra. **Ines Andretta**, a qual posso chamar de amiga, palavras não são suficientes para o tanto que eu gostaria de agradecer. Tenho certeza de que ela sente a importância que teve e tem para mim não só na condução do trabalho, mas também como conselheira e até nas horas em que parecia que nada estava dando certo e que precisava não só de um consolo, mas de um colo.

À **Capes** pela bolsa de estudos e ao **Programa de Pós-Graduação em Zootecnia** pela oportunidade da realização do Doutorado.

Ao Prof. **Dr. Márcio Valk**, pela ajuda preciosa dada ao desenvolvimento do meu trabalho. O meu muito obrigada por não ter “abandonado o barco” no momento em que mais precisei. Levo no meu coração.

À Profa. **Dra. Andrea Machado Leal Ribeiro**, exemplo como pessoa e profissional. Às conversas que, de uma forma ou de outra, sempre deram resultados práticos importantes.

Às minhas amigas e colegas de doutorado, **Bruna Schroeder** e **Catiane Orso**, por todo apoio, áudios de 15 minutos ouvidos e carinho durante os anos de convívio. Levarei vocês no coração, sempre.

Às minhas amigas de longa data, **Ariana Ferro, Andressa Maffi e Camila Tonini**, mesmo distantes fisicamente, me deram força em todos os momentos. Obrigada por tudo.

Ao pessoal do centro de pesquisa Agri-food do Canadá: **Aline Remus, Carolina Franceschi, Marion Lautrou borla-salamet, Sophie Horth, Surina Su, Mengqi Wang** e em especial ao **Dr. Candido Pomar**, o meu muito obrigada por tudo!

Ao **Luan Sousa** e ao **Normand Dery**, pessoas que me acolheram no Canadá como se eu fosse membro da família. Foram essenciais nessa caminhada.

A todos os meus sinceros agradecimentos.

ESTUDO DO CONTROLE INGESTIVO EM SUÍNOS E CÃES¹

Autor(a): M. Sc. Bruna Cristina Kuhn Gomes

Orientador: Prof. Dr. Luciano Trevizan

RESUMO

O estudo avaliou o comportamento ingestivo de duas diferentes espécies, com o objetivo de compreender os mecanismos comportamentais e fisiológicos que controlam a ingestão de alimentos em suínos e cães. O comportamento alimentar de 70 suínos foi acompanhado durante 84 dias em dois sistemas de alimentação: convencional e de precisão. O conjunto de dados coletados se caracterizou por possuir múltiplas variáveis e, portanto, foi utilizado um procedimento de filtragem de informações. O critério para delimitar a refeição foi definido com base na probabilidade de um animal iniciar uma refeição no próximo minuto em relação ao tempo despendido desde a última refeição. Correlações prandiais foram definidas entre o tamanho da refeição e o intervalo antes da refeição (pré-prandial) ou após a refeição (pós-prandial) através da análise de correlação de Pearson. Verificou-se que os suínos possuem diferentes tipos de regulação para início de uma refeição (correlações prandiais), tanto na alimentação convencional, quanto no sistema de precisão. Os mecanismos de regulação da fome (pós-prandias) apresentaram correlações mais fortes que os de saciedade (pré-prandiais), ou seja, a quantidade de alimento ingerido em uma refeição influencia no intervalo até a próxima refeição. Além disso, estas correlações diminuem com o aumento da idade dos animais. Os resultados deste estudo também demonstraram que durante a noite houve uma maior probabilidade dos animais iniciarem uma nova refeição após longos intervalos pós refeição. Em animais mais jovens a probabilidade de iniciar a refeição foi maior e em relação ao efeito dos programas de alimentação, os suínos do programa convencional apresentaram probabilidade menor de iniciar uma refeição com base na última refeição. No segundo estudo, foram utilizados 12 cães da raça Beagle durante 60 dias. Os cães foram alimentados sob três diferentes programas alimentares: T1 – duas refeições ao dia com 50% da necessidade energética diária, com 12 horas de intervalo; T2 – uma refeição dia, com toda a necessidade energética diária; e, T3 - alimentados uma vez a cada dois dias, com toda energia necessária em uma única refeição. Amostras de sangue foram coletadas nas horas 0 (antes da alimentação), 12, 24, 36 e 48h (após a primeira refeição). Os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes e da energia foram comparados entre os programas alimentares. Cães alimentados a cada 2 dias perderam peso em relação ao demais e apresentaram maiores concentrações de ácidos graxos livres no plasma ($P < 0.0001$). Os diferentes programas de alimentação não interferiram na digestibilidade de nutrientes e energia ($P > 0.05$). Isso sugere que os programas alimentares interferem apenas sobre a metabolização dos nutrientes, aumentando o *turnover* dos lipídeos, que aumenta o gasto energético, e leva a perda de peso. O comportamento ingestivo

¹Tese de Doutorado em Zootecnia – Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (137p.), Março de 2020.

foi afetado por fatores extrínsecos e intrínsecos: no estudo de suínos, a idade, o ritmo circadiano e os diferentes programas de alimentação tiveram efeito; no estudo com cães os programas alimentares afetaram a metabolização da energia.

Palavras-chave: comportamento, nutrição, precisão, refeição

STUDY OF INGESTIVE CONTROL IN PIGS AND DOGS²

Author(a): M. Sc. Bruna Cristina Kuhn Gomes

Advisor: Prof. Dr. Luciano Trevizan

ABSTRACT

The study evaluated the ingestive behavior of two different species, in order to understand the behavioral and physiological mechanisms that food intake control in pigs and dogs. The feeding behavior of 70 pigs was monitored for 84 days in two feeding systems: conventional and precision. The data collected was characterized by having multiple variables and, therefore, an information filtering procedure was used. The criterion for delimiting the meal was defined based on the probability of an animal starting a meal in the next minute in relation to the time spent since the last meal. Prandial correlations were defined between meal size and the interval before the meal (pre-meal) or after the meal (post-meal) through Pearson's correlation analysis. It was found that pigs have different types of regulation for starting a meal (prandial correlations), in conventional feeding and in the precision system. The mechanisms of hunger regulation (postprandial) showed stronger correlations than those of satiety (preprandial), the amount of feed eaten in a meal influences the interval until the next meal. In addition, these correlations decrease with increasing age of the animals. The results of this study also demonstrated that during the night, animals were more likely to start a new meal after long post-meal intervals. In younger animals the probability of starting a meal was higher and in relation to the effect of the feeding programs pigs in the conventional program were less probability to start a meal based on the last meal. In the second study, 12 Beagle dogs were used for 60 days. The dogs were fed under three different feeding programs: T1 daily energy requirement divided into two 12-hour meals, T2 fed once a day, with all the daily energy needs, T3 dogs fed once every two days, with all the energy needed to meet the 2-day energy requirement. Blood samples were collected at hours 0, 12, 24, 36 and 48 of each block. Non-esterified fatty acids (AGNE), beta-hydroxybutyrate, glucose (GLU) and triglycerides (TG) were evaluated. The digestibility coefficients of nutrients and energy were compared between food programs. Dogs fed every 2 days lost weight in relation to the others and presented higher concentrations of free fatty acids in the plasma ($P < 0.0001$). The different feeding programs did not interfere with the digestibility of nutrients and energy ($P > 0.05$). This suggests that dietary programs only interfere with nutrient metabolism, increasing lipid turnover, which increases energy expenditure, and leads to weight loss. Ingestive behavior was affected by extrinsic and intrinsic factors: in the pig study, age, circadian rhythm and different feeding programs had an effect; in dog study, dietary programs affected energy metabolism.

Key words: behavior, nutrition, precision, meals

²Doctoral thesis in Animal Science – Faculdade de Agronomia, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil (137p.), March of 2020.

Sumário

CAPÍTULO I.....	14
1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1. Comportamento alimentar.....	17
2.4. Estímulo alimentar	19
2.5. Fatores que influenciam no comportamento alimentar	22
2.7. Controle neuronal da fome e da saciedade	24
3. HIPÓTESES E OBJETIVOS	29
CAPÍTULO II.....	30
CAPÍTULO III.....	66
CAPÍTULO IV	90
CONSIDERAÇÕES FINAIS	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
APÊNDICES.....	96
Apêndice A – Carta de aprovação do Comitê de ética no uso de animais	96
Apêndice B – Normas para redigir o capítulo III – Publicação no periódico Journal of Animal Science.....	114
VITA	135

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO II	
Tabela 1.	Ingredientes e composição química das dietas experimentais. 53
Tabela 2.	Estatística descritiva das respostas de comportamento alimentar em suínos em crescimento-terminação antes e depois do critério de refeição. 54
Tabela 3.	Médias semanais das correlações pré e pós prandiais calculadas para toda a população. 55
Tabela 4.	Médias das correlações pré e pós prandiais calculadas para cada tratamento. 56
CAPÍTULO III	
Tabela 1.	Composição da dieta basal e composição química. 76
Tabela 2.	Ingestão de nutrientes, digestibilidade e características de fezes em cães alimentados com dietas contendo diferentes programas de alimentação. 77
Tabela 3.	Características urinárias em cães alimentados com dietas contendo diferentes programas de alimentação. 78
Tabela 4.	Média da área abaixo da curva para as características do metabolismo de cães com diferentes programas de alimentação. 79

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO I	
Figura 1.	Esquematização de correlações pré e pós prandiais entre refeições e intervalos entre refeições. 19
CAPÍTULO II	
Figura 1.	Ponto mínimo quando a probabilidade de iniciar uma refeição (P_{start}) foi plotada em relação ao comprimento do intervalo (Tempo). 57
Figura 2.	Probabilidade de o animal iniciar uma refeição de acordo com o intervalo desde a última visita. 58
Figura 3.	Probabilidade de o animal iniciar uma refeição de acordo com o intervalo desde a última visita, por tratamento. 59
Figura 4.	Probabilidade de o animal iniciar uma refeição de acordo com o intervalo desde a última visita, por idade. 60
Figura 5.	Box Plots das correlações pré e pós prandiais calculadas para cada indivíduo da população em cada semana do estudo. 61
CAPÍTULO III	
Figura 1.	Respostas das médias de AGNE, glicose, BHB e triglicerídeos de cães com diferentes programas de alimentação, representados graficamente em função do tempo. 78

RELAÇÃO DE ABREVIATURAS

AGNE	Ácido graxo não-esterificado
AGRP	Peptídeo relacionado ao gene <i>agouti</i>
AIPF	Alimentador automático e inteligente de precisão (<i>Automatic and Intelligent Precision Feeder</i>)
BHB	Beta hidroxibutirato
CART	Transcritos relacionados à anfetamina e cocaína
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CCK	Colecistoquinina
CNTF	Fator neurotrófico ciliar
CRH	Hormônio hipotalâmico liberador de corticotropina
ECC	Escore de condição corporal
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
FEDIAF	Federação Europeia das Indústrias de Pet Food (<i>The European Pet Food Industry Federation</i>)
GLI	Glicose
GLP-1	Peptídeo semelhante ao glucagon
MSH	Melanocortina hormônionestimulador
NPY	Neuropeptídeo Y
POMC	Pró-ópiomelanocortina
PYY	Polipeptídeo YY
SNC	Sistema nervoso central
TG	Triglicerídeo
TRH	Hormônio hipotalâmico liberador de TSH
5-HT	Receptores de serotonina

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

Cada vez mais o mercado consumidor exige informações sobre as tecnologias aplicadas na produção com vistas no bem-estar animal. O enfoque deixou de ser apenas a produtividade animal e passou-se a investigar os processos e as razões envolvidas no ato do animal consumir o alimento. Portanto, torna-se importante que aqueles que exercem a zootecnia se conscientizem de que a produção animal, num futuro próximo, não seguirá apenas metas associada à produtividade, mas mais importância deverá ser direcionada ao ambiente de produção (Queiroz et al., 2014). O estreitamento das relações entre animais e homens tem despertado o olhar crítico dos profissionais da área, tornando imprescindível a avaliação de como os animais se portam e que condições lhes conferem bem-estar.

As interações com animais domésticos datam de períodos em que o homem vivia como caçador nômade. No caso dos cães, é bem aceita a hipótese de que os acampamentos do hominídeo atraíam lobos cinzentos (*Canis lupus*) e seus sucessivos contatos evoluíram para a domesticação. Os animais, com origem carnívora, provavelmente sofreram interferências da domesticação e dos hábitos alimentares humanos bastante onívoros. Considerando o período de tempo relativamente curto em que ocorreu a domesticação e a relação genética próxima, o genoma do cão ainda seria predominantemente o produto das pressões seletivas ambientais impostas ao seu antepassado. O hábito alimentar das espécies, no entanto, nas últimas décadas tem sido alterado pelos antropomorfismo do comportamento humano. As grandes refeições, altamente energéticas, com grandes intervalos entre refeições (Boyko, 2009; Bosh et al., 2015) típicas de canídeos selvagens foram trocadas por pequenas e múltiplas refeições de alimento industrializado. As influências deste processo permanecem pouco conhecidas e o comportamento ingestivo de cães necessita ser melhor estudado para entender como se produz apetite e saciedade.

Nos suínos, os avanços do melhoramento genético, especialmente com a seleção de indivíduos com melhores características de composição corporal, também influenciaram os padrões de alimentação e regulação de consumo. Conhecer o comportamento alimentar dos suínos é decisivo para definir sua influência sobre o desempenho produtivo. Além disso, informações aprofundadas sobre o comportamento alimentar dos suínos são muito úteis na implementação de programas de alimentação de precisão.

O comportamento ingestivo de um animal é controlado por diversos fatores, como exemplo, pelo conteúdo energético das dietas e pela quantidade de alimento consumida, as quais podem influenciar a saciedade pós-prandial. Os efeitos da dieta no comportamento ingestivo de humanos têm sido investigado e é influenciado por fatores de cunho sociais (Chapinal et al., 2008), e estas mesmas interações comportamentais já foram relatadas em pesquisas em cães (Bosh et al., 2015). Cães, assim como suínos, são usados como modelos experimentais por desenvolverem comportamentos cognitivos similares aos humanos (Bosh et al., 2015).

A análise das relações entre o tamanho da refeição e os intervalos entre as refeições, chamado de correlações prandiais, permitem melhor compreensão dos mecanismos de fome e saciedade que repercutem no entendimento do controle de consumo alimentar, tanto em cães quanto em suínos. Correlações pós prandiais positivas, ou seja, entre tamanho da refeição e o intervalo pré prandial têm sido considerado como evidência da existência de "mecanismos de saciedade", na qual a saciedade é alcançada quando o animal atinge as necessidades nutricionais. Da mesma forma, correlações pré prandiais significativas entre o tamanho da refeição e o comprimento de intervalo após a refeição, têm sido visto como evidência da existência de "mecanismos de fome", isto é, uma refeição é desencadeada pela fome quando os níveis nutricionais do animal ficam mais baixos (Tolkamp et al., 2012).

Os hormônios insulina, leptina, colecistoquinina (CCK) e o peptídeo YY são grandes potenciadores da atividade dos neurônios anorexígenos. Por outro lado, a ação da grelina aumenta a atividade dos neurônios orexígenos. Estes hormônios sintetizados perifericamente atravessam a barreira hematoencefálica e se ligam aos seus receptores no núcleo arqueado hipotalâmico com o objetivo de regular a ingestão alimentar e controlar o balanço energético. Estes mecanismos revelam a complexidade do controle do balanço energético e todos os centros envolvidos na busca pela homeostase energética (Damiani, 2011; Maior, 2012).

O processo da saciedade não está inteiramente elucidado, e compreender os mecanismos que causam a iniciação e/ou cessação da fome seriam altamente benéficos para a concepção de estratégias para atender a diferentes espécies. No caso dos suínos, estimular o apetite pode repercutir nos índices de desempenho, porém em cães o conhecimento do controle do comportamento ingestivo permitiria reduzir o consumo alimentar, especialmente para aqueles animais que perderam a habilidade de controle de consumo e o fazem em excesso levando a graves distúrbios no controle do peso. Este trabalho foi desenvolvido para compreender os mecanismos comportamentais, fisiológicos e hormonais que controlam a ingestão de alimentos e a saciedade em cães e suínos.

Assim, esta tese foi dividida em 4 capítulos: O capítulo 1 aborda as teorias e estudos relacionados a fatores envolvidos no comportamento ingestivo de suínos e cães. O capítulo 2 inclui um estudo com alimentadores de precisão em suínos em que se avaliou o comportamento ingestivo através de critérios de refeição, correlações prandias e probabilidades de início de uma refeição. O capítulo 3 compõe um estudo em que cães foram alimentados sob diferentes programas alimentares com variação do número de refeições para o fornecimento da quantidade adequada de energia dentro de um mesmo período de tempo. Neste estudo foram avaliadas as respostas digestivas e metabólicas. No capítulo 4 são apresentadas as considerações finais da tese.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Comportamento alimentar

O termo comportamento alimentar geralmente refere-se à atividade de monitorar a frequência de cada refeição, individualmente. Também pode abranger o comportamento do animal durante uma refeição, como o tamanho da refeição e o tempo que permanece no alimentador, assim como a quantidade de alimento que foi consumido por refeição (Bokkers & Koene, 2003; Forbes, 2007). Embora a quantidade de alimento consumido em períodos curtos possa estar relacionada a fatores como as necessidades de nutrientes do animal e a composição nutricional do alimento, há uma variação considerável na atividade de frequência durante o dia, mesmo entre indivíduos semelhantes, dentro de um grupo. Muitos fatores afetam o comportamento alimentar, incluindo o potencial de crescimento (peso e idade), instalações (tamanho do grupo) e variáveis ambientais (ritmo circadiano e sistema de manejo) (Renaudeao et al., 2006; Fisberg et al., 2009). Os fatores que estimulam o consumo alimentar são regulados, principalmente, pela região lateral do hipotálamo (centro da fome) e região ventro-medial do hipotálamo (centro da saciedade). Existem dois principais fatores que atuam sobre o centro da saciedade, sendo classificados como fatores químicos (nível de energia e hormônios do apetite e saciedade) e fatores físicos (distensão do estômago) (Case et al., 1998). À medida que os nutrientes passam pelo estômago, intestino delgado e atingem a circulação sanguínea, sinais quimiostáticos são enviados por meio de hormônios até o hipotálamo, os quais são captados e estimulam o centro da saciedade. Já a teoria física refere-se às respostas nervosas de neurotransmissores situados na mucosa gástrica, que irão estimular o nervo vago, emitindo sinais ao cérebro (Forbes, 2007).

2.2. Padrões de refeição

A maioria dos suínos durante o período de crescimento-terminação são alimentados *ad libitum*. A ingestão diária de alimentos é determinada pela frequência da refeição e a quantidade de alimento consumido. Com livre acesso à alimentação, alguns suínos apresentam alto potencial de ingestão voluntária de alimento fato de grande importância na produção de suínos, em que o consumo alimentar está associado ao ganho de peso. Já, em outras espécies como cães, a alta ingestão voluntária pode ser um problema que leva a grandes riscos de obesidade. Com isso, os estudos de comportamento alimentar são considerados relevantes para a compreensão do controle ingestivo dos animais, em que períodos distintos de alimentação são chamados de refeições. A refeição é considerada uma unidade relevante de ingestão de alimento. Ao analisar o comportamento alimentar, muitas vezes é adotado um intervalo mínimo entre refeições, sendo as refeições separadas por intervalos menores do que esse valor como parte da mesma refeição contínua. Este intervalo crítico entre refeições, se for para ser aplicado, não deve ser selecionado arbitrariamente (Forbes, 2007; Howie et al., 2009).

As três principais medidas de comportamento alimentar são o número de refeições por dia, o tamanho da refeição e a duração da refeição. Se critérios de

refeições arbitrariamente definidos são usados, poderá haver muitas refeições pequenas separadas por intervalos curtos, que poderá acarretar em conclusões falhas de dados sobre o comportamento alimentar. Portanto, o método utilizado para estimar o critério de refeição tem importante efeito sobre os valores obtidos, podendo ter um grande impacto nas conclusões para análise do padrão de refeição (Nielsen et al., 1999, Tolkamp et al., 2011).

Os animais de produção alimentam-se por refeições pequenas e estudos vêm sendo realizados para tentar descobrir o que faz com que eles começem e parem de comer, na premissa de que, assim, entenderemos como a ingestão de alimentos é controlada. No entanto, apesar da descoberta de alguns fatores que influenciam o início e a cessação da refeição, leva-se em conta o fato de que as ingestões em períodos mais longos são invariavelmente muito mais estáveis do que aquelas em curtos períodos de uma ou poucas refeições. A estabilidade da ingestão ao longo de vários dias é observada em relação da extrema variabilidade do tamanho e intervalo da refeição (Forbes, 2007). Os suínos alimentam-se várias vezes ao dia, de forma que a necessidade da secreção biliar para a digestão de lipídeos se torna constante. Esse fato levou a um desenvolvimento precário do esfíncter de Oddi, ao contrário dos cães, que se alimentam com intervalos maiores de tempo (Laplace et al., 2001).

Em cães, não é definido um padrão de refeição, visto que os ancestrais dos canídeos consumiam grandes refeições com um longo intervalo entre refeições. Porém, o processo de domesticação do lobo se fez acompanhar de várias modificações morfológicas e comportamentais em decorrência da nossa própria evolução (Buff et al., 2014).

2.3. Controle do tamanho de refeição

Estudos demonstram que a quantidade de comida consumida durante as refeições individuais está sob o controle de sinais gerados em resposta ao alimento sendo ingerido (Smith 1998, Smith & Gibbs 1992). E há mais evidências de que a sensibilidade do cérebro a esses sinais gerados por refeição é, por sua vez, determinada em parte pelo tamanho da massa adiposa. Ou seja, quando são administrados aos animais compostos que indicam ao cérebro que a gordura corporal aumentou, eles se tornam muito mais sensíveis à ação de suprimir a refeição de sinais gerados por refeição, como colecistocinina (CCK). O ponto é que um indivíduo que tenha ingerido alimentos insuficientes será menos sensível aos sinais finais das refeições e, dada a oportunidade, consumirá refeições maiores em média. Do contrário, um indivíduo que ingeriu excesso de comida e, consequentemente, ganhou algum peso, se tornará mais sensível aos sinais de término de refeição ao longo do tempo. Consistente com isso, seu sistema digestivo pode recorrer à ação de enzimas digestivas e secreções para moldar o processo digestivo com o que realmente entrou no intestino. Isto é, conseguido através de sensores na boca e no trato digestivo que analisam o que é consumido e que coordenam a mistura precisa de sucos digestivos a serem adicionados à comida e que controlam a velocidade com que o conteúdo alimentar se move através do sistema gastro intestinal (Woods et al., 1998). As células sensoriais enteroendócrinas que revestem o intestino secretam compostos que sinalizam órgãos distantes, como o fígado e o pâncreas exócrino, para liberar as secreções apropriadas no intestino. Smith e Gibbs (1992)

observaram que algumas das secreções (principalmente peptídeos) estimulavam adicionalmente os nervos sensoriais e, assim, forneciam um sinal relacionado ao número e tipo de calorias consumidas no cérebro. Consequentemente, o cérebro integrava essa informação com outros controladores e, assim, determinava o tamanho da refeição.

O péptido intestinal CCK é o exemplo mais conhecido destes sinais de controlo de tamanho de refeição. A CCK é secretada pelo intestino durante as refeições normais, e há receptores específicos, entre muitos outros lugares, nas fibras sensoriais do nervo vago, perto do ponto em que o alimento passa do estômago para o intestino (Smith et al., 1984; Dockray, 2009).

Assim, durante uma refeição, a CCK secretada localmente pode estimular esses nervos e, assim, enviar um sinal para o tronco cerebral inferior, onde fazem sinapse com os neurônios que controlam os reflexos e respostas digestivas, bem como, com os neurônios que passam anteriormente para o cérebro. Quando os antagonistas seletivos do receptor de CCK-A são administrados aos animais antes de uma refeição (Dockray, 2009), o tamanho da refeição aumenta significativamente. Tais resultados implicam que o CCK endógeno normalmente atua para reduzir o tamanho da refeição. Consistente com isto, se a CCK exógena é administrada antes de uma refeição, o tamanho da refeição é diminuído significativamente e dose-dependente (Woods et al., 1998).

A importância do circuito CCK para o nervo vago e para tronco cerebral é revelada quando os campos receptivos das fibras sensoriais estão comprometidos. Nestas circunstâncias, a CCK exógena não reduz mais o tamanho da refeição. Consistente com essas observações, quando essas mesmas fibras sensoriais foram comprometidas, há um aumento no tamanho das refeições, o que sugere que elas enviam sinais ao cérebro que possa limitar a ingestão (Moran et al., 1988; Kelly et al., 1999; Rehfeld, 2004).

Porém as sensações provocadas pela CCK compreendem apenas uma parte dos sinais relacionados à refeição que influenciam o tamanho da refeição. Existem inúmeros outros peptídeos intestinais que possuem ações semelhantes, embora as vias pelas quais seus sinais sejam transmitidos ao cérebro sejam diferentes, por exemplo: glucagon, insulina, glicose, peptídeo YY (PYY), secretina, gastrina. Existem também outros tipos de sinais que teoricamente ajudam a limitar o tamanho das refeições, incluindo a quantidade de distensão ou estiramento do estômago. As terminações nos nervos sensoriais vagais nas camadas musculares do estômago estão situadas para funcionar como receptores de tensão ou estiramento. Esses mesmos nervos têm outros ramos com diferentes tipos de terminações sensoriais, o que sugere que dois ou mais tipos de informação sensorial podem ser integrados dentro de neurônios vagais únicos (Woods et al., 1998).

2.4. Estímulo alimentar

O comportamento quando o animal está com fome envolve a busca, localização e manipulação de alimentos, antecedendo a alimentação propriamente dita. Há evidências substanciais para demonstrar a importância dos fatores externos na indução da alimentação. Mesmo em invertebrados

somente fatores internos não são suficientes para manter a motivação alimentar, sendo também necessário apresentar um estímulo externo para induzir o comportamento alimentar (Forbes, 2007). A alimentação pode ser controlada pelo apetite, saciedade ou ambos. Correlações prandiais (relação entre a última refeição e o intervalo antes e após) são estudadas para ter uma melhor compreensão em relação aos mecanismos de fome e saciedade. Se a alimentação é controlada pela saciedade, espera-se maior correlação entre o tamanho da refeição e o intervalo pós prandial (pós refeição). Já quando o apetite é o principal fator de controle se espera alta correlação entre o tamanho da refeição e o intervalo pré prandial, pré refeição (Bokkers & Koene, 2003; Tolkamp et al., 2012), (Figura 1).

A importância dos fatores intrínsecos e extrínsecos tem sido reconhecidos como fatores que influenciam o estímulo alimentar, ou seja, os estímulos que levam o animal a iniciar um consumo são vistos como estados temporários e reversíveis do cérebro induzidos por sinais internos e externos (Maselyne et al., 2015). Um fator externo que estimula mudanças motivacionais é muitas vezes referido como um "incentivo" e é ele próprio o produto de várias características, por exemplo, a disponibilidade e as qualidades sensoriais do alimento. Portanto, o estímulo alimentar resulta da combinação multiplicativa de fome e incentivo (Forbes, 2007).

Além desses processos relacionados a motivações específicas, uma série de processos não específicos, como o aprendizado, pode modular a expressão de estados motivacionais. A aprendizagem pode ser distinguida da motivação como dando origem a mudanças relativamente não reversíveis no comportamento. Por exemplo, a apresentação repetida de um estímulo relacionado com alimentos aumenta progressivamente a atividade reflexa oral, um processo conhecido como sensibilização (Maselyne et al., 2015).

A excitação é outro modulador relevante do estímulo alimentar. Quando os animais são expostos a níveis relativamente leves de estimulação periférica ou quando o comportamento motivado é fisicamente impedido, eles geralmente mostram respostas que não são explicáveis inteiramente em termos de motivações específicas. Estas respostas medidas em condições experimentais têm relevância para animais de produção onde o confinamento em ambientes pequenos e fechados pode muitas vezes frustrar o comportamento, ou animais de companhia que passam a maior parte do tempo solitários. Eles podem ser explicados com base no fato de que a estimulação induz um estado aumentado de ativação comportamental geral ou excitação que facilita e melhora o desempenho de comportamentos não frustrados (Forbes, 2007). Em geral, o estímulo alimentar está relacionado com fatores internos e estímulos externos.

Outros trabalhos sugerem que a duração do período entre refeições pode ter influência sobre a saúde e a nutrição do organismo. Estes resultados sugerem que a periodicidade com que a proteína, energia e vitaminas são ingeridas ao dia desempenha um papel significativo na regulação de todo o metabolismo do corpo (Cohn et al., 1962; Hoy et al., 2012). Existe a hipótese de que o consumo de refeições a intervalos regulares, em contraste com as pequenas e frequentes refeições, resulta em diferenças nas quantidades de metabólitos intermediários canalizados sobre vias enzimáticas. Assim, as mudanças na periodicidade com

que essa dieta é ingerida são acompanhadas por diferenças na maneira em que o corpo reage com sua cota diária de nutrientes (Cohn et al., 1962).

Pesquisas têm investigado os padrões de alimentação espontânea para obter uma visão sobre os mecanismos de alimentação. Decastro (1981) afirmou que "... o rato que recebeu alimentação *ad libitum* regulou a sua ingestão de alimento com base no quanto tinha acabado de comer (saciedade) em vez de há quanto tempo havia sido a última alimentação (fome)". Assim, a saciedade estaria correlacionada com o tamanho da refeição e o intervalo subsequente entre alimentação (correlação pós-prandial). Por outro lado, o apetite estaria correlacionado com o tamanho da refeição e o intervalo anterior de alimentação (correlação pré-prandial). Recentemente, o controle da ingestão de alimentos também foi investigado examinando a probabilidade de um animal começar e terminar uma refeição versus o tempo desde a última refeição e a quantidade de alimento consumido (Maselyne et al., 2015).

Quando a saciedade controla a alimentação, pode-se esperar uma correlação positiva entre o tamanho da refeição e o intervalo pós prandial e, o tempo em que isto ocorre está correlacionado com o tamanho da refeição anterior. O esvaziamento do estômago e do trato gastrointestinal e a utilização metabólica do alimento foram fatores importantes para este efeito. No entanto, também foram relatadas influências de quantidade e qualidade de alimentos e do ritmo circadiano.

Os padrões diurnos na alimentação também podem ser explicados pela saciedade. Por exemplo, Kraly et al. (1980) concluíram que a alimentação noturna em ratos foi controlada pela diminuição da saciedade durante a noite versus o dia. Quando a fome é o principal fator de controle, espera-se que os animais regulem o tamanho da refeição com base no tempo desde a última alimentação. Uma correlação significativa entre o tamanho da refeição e o intervalo pré-prandial (intervalo anterior à refeição) foi encontrada apenas em situações específicas. Vários autores sugeriram que o deslocamento da refeição é bastante determinado pelos sinais de feedback da distensão do estômago e do conteúdo calórico da refeição (Kraly et al., 1980; Zorrilla et al., 2005). A maioria dos estudos em animais concorda que a alimentação livre é regulada pela saciedade (correlação pós-prandial) e que os mecanismos de apetite (correlação pré-prandial) só desempenham um papel em situações específicas (Montgomery et al., 1978; Young, 1994).

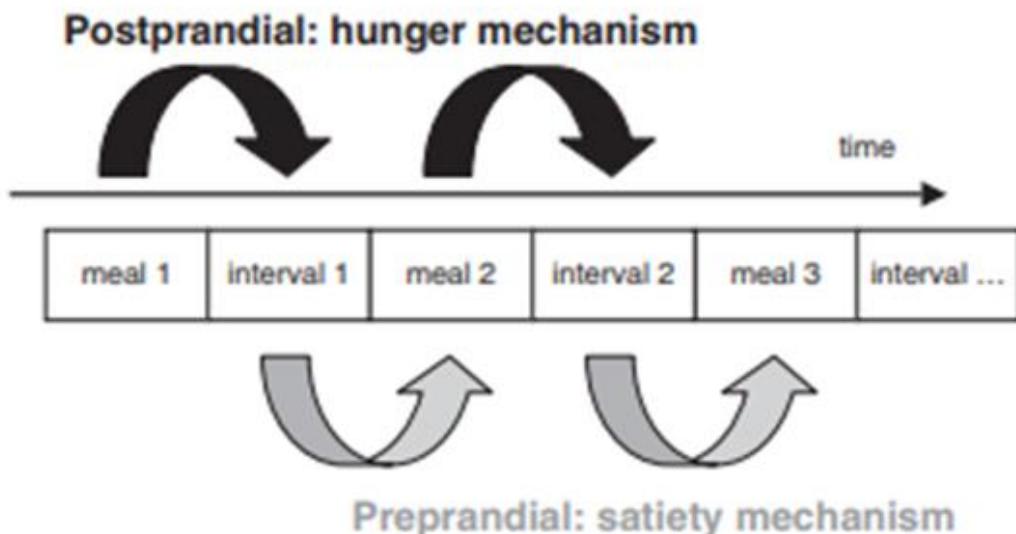


Figura 1. Esquematização de correlações pré e pós prandiais entre refeições e intervalos entre refeições.

2.5. Fatores que influenciam no comportamento alimentar

O ambiente também tem um efeito sobre o comportamento animal. Forbes e Kyriazakis (1997) descreveram muitas influências na seleção da dieta, que também pode se aplicar ao comportamento alimentar: propriedades sensoriais, memória de aprendizagem, influências sociais, influências externas. O peso dos animais tem uma grande influência, bem como a variação circadiana, idade e o programa alimentar utilizado (Maselyne; Forbes, 2007).

A variação no consumo de ração entre os suínos em crescimento pode ser explicada pelas variações no consumo de ração para manutenção e consumo para desempenho do crescimento. A variação na ingestão de alimentos para manutenção é normalmente prevista em função da variação do peso corporal metabólico e da variação na ingestão de alimento para o desempenho do crescimento em função do ganho de peso corporal e da sua composição. A maneira como o alimento é apresentado ao animal tem demonstrado afetar o comportamento alimentar e a alimentação restrita ou à vontade também alteram significativamente o comportamento alimentar (Mselyne et al., 2015).

Alguns trabalhos demonstram que em torno de 60 a 75% do consumo alimentar, duração da refeição e quantidade ingerida ocorrem durante o dia, independente da temperatura ambiental (Quiniou et al., 2000). Estudo realizado por Bruinx et al (2002) analisaram a variação do consumo individual de leitões através de alimentadores de precisão e observaram que o número de suínos que iniciaram o consumo de alimento durante o período da noite foi limitado, indicando que a variação circadiana pode afetar o consumo de ração dos animais.

Muitos programas de seleção genética para suínos, por exemplo, basearam-se em sistemas experimentais que envolveram a medição da ingestão de alimentos provenientes de animais mantidos em baixas individuais. O desenvolvimento de sistemas de alimentação de precisão individual tem o

potencial de solucionar esses problemas, permitindo que os indivíduos sejam alimentados com dietas adaptadas diariamente às suas necessidades individuais de nutrientes, enquanto são mantidos em um ambiente social (Chapinal et al., 2008; Nielsen, 1996).

Os padrões de uso do comedouro por suínos alojados coletivamente podem ser afetados por diversos fatores, como a fotoperiodicidade, tamanho do grupo, interação social, fornecimento de ração, manejo e variáveis ambientais (Chapinal et al., 2008). Nielsen et al. (1996) descobriram que os suínos na fase de crescimento alimentados a partir de um alimentador de quatro espaços comiam com maior frequência, mas comeram quantidades menores do que os suínos alimentados a partir de um alimentador de espaço único. Andretta et al. (2016), ao avaliarem suínos alojados em grupos com alimentadores de precisão, observaram que todas as variáveis de comportamento alimentar foram significativas ($P<0,05$), sendo que o consumo de ração por refeição e a velocidade de consumo aumentaram ao longo do crescimento dos animais.

Os suínos alojados em grupos grandes com um alimentador de espaço único (assim, uma proporção elevada de refeição para animais) reduziram a sua frequência de alimentação, mas aumentaram a velocidade alimentar, a duração e a ingestão por visita ao comedouro em estudo realizado por Chapinal et al. (2008).

Semelhantemente ao lobo, um número de raças de cães ainda mantém o comportamento dos ancestrais, ou seja, podem consumir grandes refeições em uma única vez. Os cães selvagens gastam muito tempo e gastam muita energia procurando, perseguindo e capturando suas presas e o comportamento predatório é desencadeado pelo apetite (Bosch et al., 2014). Griffin et al. (1984) compararam as preferências alimentares em 191 cães que viviam em casas versus 240 cães com pedigree que viviam em canis. Utilizaram dois alimentos secos, dois alimentos enlatados e dois alimentos semi-úmidos, e verificaram diferentes preferências entre os dois grupos de animais para os dois alimentos secos e os dois alimentos semi-úmidos, concluindo que essas diferenças poderiam ser explicadas pelas experiências diferentes dos dois grupos.

No entanto, mesmo quando todas essas influências são mantidas constantes, as diferenças individuais ainda existem. A variedade de resultados e fatores influenciadores mostra que os animais, independente da espécie, podem adotar comportamentos alimentares muito flexíveis. Pequenas diferenças nas condições em que os animais vivem podem afetar o comportamento alimentar e diferentes animais têm maneiras distintas de manter a homeostase. Deve-se tomar cuidado para não generalizar os resultados entre as espécies, as condições experimentais e até mesmo os animais individuais, porque o comportamento da alimentação tem se mostrado um processo frágil e complexo.

Fatores dietéticos também podem interferir no apetite e saciedade dos animais, Gulliford et al. (1989) demonstraram que as respostas de glicose sanguínea a alimentos podem ser modificadas pelas ingestões de gordura e proteína. Dietas ricas em gordura retardam o esvaziamento gástrico (Thomas, 1957), reduzindo o aumento da glicose plasmática pós-prandial no homem (Nguyen et al., 1994). Collier et al. (1984) mensuraram o efeito da ingestão da gordura sobre a resposta de glicose a carboidratos de absorção rápida e lenta em indivíduos normais. A ingestão de gordura reduziu a resposta de glicose

sanguínea para os dois tipos de carboidratos, embora tenha sido quantitativamente menor para o carboidrato de absorção mais lenta. Nguyen et al. (1994) demonstraram que os mesmos fatores que contribuem para respostas glicêmicas e insulínicas pós-prandiais em seres humanos influenciam estas respostas nos cães. Conteúdos de proteína e gordura foram determinantes na cinética das respostas glicêmicas e insulínicas nesta espécie.

2.6. Relação do tamanho e intervalo entre refeições

Uma alta correlação entre o tamanho das refeições e o comprimento dos intervalos pré refeições implica que existe um mecanismo que determina quando a alimentação deve parar, isto é, que os mecanismos de saciedade predominam. Por outro lado, existe uma correlação alta entre o tamanho da refeição e o intervalo pós-refeição, isto implica que existe um mecanismo para determinar quando a alimentação deve começar, isto é, um mecanismo de apetite (Basso et al., 2014).

Contudo, as proporções estatisticamente significativas entre a quantidade da refeição e os intervalos pré ou pós prandiais podem ser uma consequência do uso de intervalos entre refeições inadequados. Se forem utilizados critérios de refeição mais curtos do que o intervalo biologicamente definido, haverá muitas refeições pequenas separadas por intervalos curtos, o que dará uma correlação mais estreita entre o tamanho da refeição e intervalo pré ou pós prandial do que se o intervalo biológico (espaços maiores entre refeições) for usado. Portanto, para uma maior precisão dos dados de comportamento alimentar, é importante que um método coerente seja usado para o cálculo de intervalos entre refeições (Howie et al., 2009; Tolkamp et al., 2011).

As correlações pré prandiais, embora baixas foram cerca de quatro vezes maiores do que as correlações pós-prandiais, isso significa que o comportamento alimentar é determinado mais pela saciedade do que pelos mecanismos de fome. A saciedade pode ser descrita pela duração e/ou tamanho da refeição. A intensidade de resposta da saciedade é correspondente ao intervalo entre refeições ou ocasiões de alimentação e/ou à quantidade de alimento consumido na próxima refeição (Tracy et al., 2001).

Mesmo quando o alimento, ambiente e o animal em si não mudam significativamente, pode haver diferenças consideráveis nos padrões mostrados por diferentes indivíduos, mesmo quando as condições são semelhantes dentro de uma mesma população.

2.7. Controle neuronal da fome e da saciedade

Existem diversos aspectos a serem considerados em relação ao controle da fome e da saciedade. O papel do hipotálamo na homeostase energética é de fundamental importância. Durante um longo tempo, reconheceu-se a existência de um fator circulante ligando as vias hipotalâmicas centrais regulatórias da fome e o tecido adiposo. Esse hormônio lipostático foi identificado e chamado de leptina.

A ação principal da leptina é exercer um efeito redutor da adiposidade em longo prazo, pela atenuação do apetite e aumento da termogênese. As moléculas de leptina circulantes, liberadas na corrente sanguínea pelos adipócitos, ativam receptores de leptina em neurônios do núcleo arqueado do

hipotálamo, que se situa próximo à base do terceiro ventrículo. Os principais alvos da ação da leptina são neurônios que expressam substâncias catabólicas como pró-ópiomelanocortina (POMC) e CART, os quais são estimulados pela ação da leptina e neurônios que expressam substâncias anabólicas, como neuropeptídeo Y (NPY) e peptídeo relacionado ao gene agouti (AGRP), que são inibidos pela ação da leptina (Friedman, 2000; Schwartz et al., 2000).

Na estrutura neuroanatômica aceita atualmente, acredita-se que os neurônios que expressam POMC/CART projetem-se do núcleo arqueado do hipotálamo para locais como a área hipotalâmica lateral e o núcleo paraventricular. Na área hipotalâmica lateral, fazem sinapses com neurônios que expressam MSH (melanocortina hormônionestimulador) e as orexinas A e B, suprimindo a expressão destes neuropeptídeos. O MSH é uma potente molécula orexígena, e sua administração intracerebroventricular em ratos leva a um aumento importante da ingestão alimentar. No núcleo paraventricular, o qual tende a uma produção catabólica (comparado à anabólica da área hipotalâmica lateral), os neurônios que expressam POMC interagem com neurônios que expressam TRH (hormônio hipotalâmico liberador de TSH), CRH (hormônio hipotalâmico liberador de corticotropina) e ocitocina. Tanto o TRH como o CRH demonstraram estar associados a aumento no gasto energético e redução na ingestão calórica. Esses efeitos podem ser mediados, em parte, por meio do eixo tireoideano e pelo sistema nervoso simpático (Schwartz et al., 2000).

Os neurônios que expressam NPY/AGRP concentram-se no núcleo arqueado hipotalâmico ventromedial e também se projetam para a área hipotalâmica lateral e para o núcleo paraventricular. O NPY é um peptídeo abundante no hipotálamo e tem efeito de aumentar a ingestão alimentar quando administrado centralmente. Além das comunicações com o hipotálamo, também há comunicação direta de POMC/CART e de NPY/AGRP com outras áreas do sistema nervoso central (SNC), como o núcleo do trato solitário, localizado na ponte, envolvido na regulação de curto prazo da ingestão alimentar, por meio da distensão gástrica e da liberação de colecistocinina (CCK) e do peptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1) (Schwartz et al., 2000). Diversos trabalhos apontam o sistema melanocortina como sendo um ponto fundamental no controle da fome e do balanço energético. Enquanto a expressão de POMC é regulada positivamente em resposta à leptina e aumenta os estoques de energia, a expressão de POMC no núcleo arqueado hipotalâmico é reduzida em condições como jejum ou deficiência de leptina. A POMC sofre clivagem pós-translacional, dando origem a vários peptídeos, dentre os quais α , β , e γ -MSH. No SNC, dois dos cinco receptores de melanocortina conhecidos (MCR), chamados de MC3R e MC4R, são ativamente expressos em áreas do cérebro relacionadas à ingestão alimentar (Murphy & Bloom, 2004).

O MC4R tem alta afinidade pelos agonistas α e β -MSH, mas também possui forte afinidade pelo antagonista AGRP. Assim, parece que o MC4R é um ponto no hipotálamo no qual ocorre a “afinação” da cascata de sinalização da leptina, com o balanço relativo entre agonistas (MSH) e antagonistas (AGRP) determinando o efeito traduzido. De fato, a administração de baixas doses de antagonistas do MC4R atenua significativamente a capacidade da leptina administrada exogenamente de reduzir a ingestão alimentar. Além disso, a

deleção do gene MC4R em ratos resulta em um fenótipo caracterizado pelo início precoce de hiperfagia e obesidade (Murphy & Bloom, 2004).

Antes da descoberta da leptina, foi proposto que a insulina poderia atuar como um sensor dos estoques de energia entre a periferia e o cérebro, por ser associada como um hormônio lipostático: pode ser transportada através da barreira hematoencefálica proporcionalmente à quantidade de gordura corporal, sua administração central está relacionada com redução da ingestão alimentar em mamíferos e receptores de insulina estão localizados em regiões reguladoras do apetite no hipotálamo. Além disso, a insulina é um regulador-chave na mudança entre estados pré e pós-prandiais, e suas concentrações plasmáticas diminuem durante o jejum e aumentam na obesidade (Davis et al., 2012).

Outros neurotransmissores e neuropeptídeos e seus respectivos receptores têm sido estudados devido a seu papel no controle da ingestão alimentar e do balanço energético, como receptores de serotonina (5-HT), receptores canabinóides CB1 e endocanabinóides, fator neurotrófico ciliar (CNTF) e várias outras substâncias (Schwartz et al., 2000).

Além da leptina e da insulina, os hormônios intestinais também possuem papel importante na saciedade pós-prandial. Dentre eles, pode-se citar a colecistocinina (CCK), o GLP-1, o peptídeo YY (PYY).

Com os avanços na compreensão das vias complexas envolvidas na regulação do apetite, da saciedade e dos estoques nutricionais, um modelo integrado desses processos foi construído. Em essência, existem dois sistemas de controle da ingestão alimentar e do peso corporal, um de curto prazo, que determina o início e o término de uma refeição, e outro de longo prazo, que é responsável pelo estoque de gordura corporal. Logo após uma refeição, a distensão do estômago e a digestão dos alimentos estimulam o nervo vago e os nervos espinhais e promovem a liberação de CCK e PYY. Estas informações chegam ao núcleo do trato solitário no tronco cerebral e ao hipotálamo, inibindo os neurônios NPY/AGRP (via anabólica) e determinando o fim da refeição (sistema de curto prazo). Evidências demonstram que a saciedade é atribuída predominantemente à ação da CCK que é liberada pelas células I do trato gastrintestinal, em resposta à presença de uma dieta de alta gordura e proteína (Konturek et al., 2004; Yannaing et al., 2012). A CCK, além de inibir a ingestão alimentar, também induz a secreção pancreática, a secreção biliar e a contração vesicular (Konturek et al., 2004).

O α-MSH, derivado da POMC, age sobre os receptores MC4R, levando à redução da ingestão alimentar. Outros neurônios secundários no SNC, com propriedades catabólicas, também são estimulados e contribuem para a diminuição da ingestão alimentar. Em torno de uma a duas horas antes de uma refeição, ocorre elevação da ghrelina, que funciona como um "iniciador de refeição". Este hormônio estimula os neurônios NPY/AGRP. A AGRP antagoniza o MC4R, desta forma bloqueando a sinalização através do sistema da melanocortina. Outros neurônios secundários no SNC, com propriedades anabólicas, são ativados e levam ao aumento da ingestão alimentar a longo prazo. O hipotálamo e o núcleo do trato solitário no tronco cerebral se interconectam e são responsáveis pelo controle da ingestão alimentar e do peso corporal (Schwartz et al., 2000; Konturek et al., 2004).

A ingestão de nutrientes e o metabolismo destes nutrientes podem ser modulados por estruturas neurais e por sistemas neuroquímicos e neuroendócrinos específicos. Alterações nestes sistemas neurais podem estar associadas às mudanças no comportamento alimentar. Pesquisas sobre o controle neuroendócrino do metabolismo energético consideram os peptídeos leptina e insulina como os dois maiores sinalizadores de adiposidade, os quais informam ao cérebro a quantidade de energia corporal armazenada como excessiva (Hallschmid et al., 2008).

Fatores neuroendócrinos são os mais relevantes para a manutenção do balanço energético do organismo, evitando a perda ou ganho de peso. Diversos sinais, pela interação com neurônios do núcleo arqueado no terceiro ventrículo hipotalâmico, são capazes de aumentar a termogênese e estimular a saciedade em momentos de muita oferta energética. Esses sinais são capazes também de promover o contrário, estimulando a fome e inibindo a termogênese em momentos de privação (Simpson; Martin; Bloom, 2009).

2.7.1 Glicose

A glicose é o mais importante substrato oxidável para a maioria dos organismos, e sua utilização como fonte de energia é universal (Marzzoco & Torres, 1999). Os mecanismos que regulam a glicemia são prioritariamente dependentes do fígado (70%), uma vez que a glicose é absorvida e transportada via circulação porta. Uma quantidade de glicose é estocada na forma de glicogênio para ser consumida no período de jejum. Os mecanismos reguladores são glicólise, glicogenólise, gliconeogênese e glicogênese (Motta, 2000). Parte do excesso de glicose pode ser convertido em triglicerídeos incorporados às lipoproteínas de densidade baixa e transportados e estocados no tecido adiposo (Motta, 2000).

2.7.2 NEFA

Os ácidos graxos desempenham importantes funções na fisiologia animal, tais como de substrato energético e na estrutura de membranas celulares. Quando mobilizados do tecido adiposo, os ácidos graxos são transportados no plasma sanguíneo sob a forma não esterificada (ácidos graxos não-esterificados, AGNE), associados à albumina plasmática. Durante o jejum, o tecido adiposo sofre maior mobilização e os AGNE passam a ser o principal substrato energético para o organismo (Newsholme et al., 1983).

Diversos estudos relacionados ao metabolismo energético relatam que o aumento de metabólitos como NEFA e BHB estão diretamente ligados à lipólise, e o aumento de sua concentração na circulação demonstra um aumento na demanda energética (Overton e Waldron, 2004; Montiel et al., 2007; Frigotto et al., 2009; Ospina et al., 2013). A mobilização de tecido adiposo das reservas corporais promove a liberação de ácidos graxos livres e o acúmulo destes no fígado (Smith et al., 1997). O acúmulo de triglicerídeos hepáticos é fisiológico, mas quando o aporte de NEFA ultrapassa a capacidade do fígado em oxidar ácidos graxos, há um acúmulo de metabólitos intermediários, conhecidos por corpos cetônicos, entre os quais BHB.

O metabolismo de NEFA no plasma é dinâmico, uma vez que estes compostos são fontes prontamente disponíveis de combustível metabólico (PALMQUIST & MATTOS, 2011). Os NEFA são direcionados a produção de energia pela via da β -oxidação no fígado, no tecido muscular esquelético e no coração (BRUSS, 2008). No período absortivo, os ácidos graxos que chegam ao fígado podem ser incorporados as VLDL e liberados na circulação. Estes podem ser direcionados para duas rotas metabólicas: quando a demanda energética do animal encontra-se atendida, os ácidos graxos são transportados ao tecido adiposo e armazenados na forma de triglicerídeos; por outro lado, se a demanda energética não foi suprida, os ácidos graxos são transportados aos tecidos periféricos e oxidados para produzir energia (PALMQUIST & MATTOS, 2011). Dessa forma, variações nos níveis plasmáticos de AGNE ocorrem em resposta a mudanças no balanço energético do animal (CALDEIRA, 2005).

2.7.3 Triglycerídeos

Os triglycerídeos são a principal forma de armazenamento de ácidos graxos no tecido adiposo, e são compostos por uma molécula de glicerol ligada a três moléculas de ácidos graxos de cadeia longa (Gurr et al., 2002). Embora a maioria das células tenha capacidade de sintetizar triglycerídeos, esta ocorre principalmente no fígado, tecido adiposo, glândula mamária e intestino delgado (BRUSS, 2008). Nos não ruminantes, a síntese de ácidos graxos e triglycerídeos ocorre principalmente no fígado, que utiliza a glicose e, eventualmente, aminoácidos como precursores (KOZLOSKI, 2009).

Assim como ocorre com o colesterol, verifica-se aumento dos níveis séricos/plasmáticos de triglycerídeos no período absortivo. Durante o processo de absorção dos lipídios nos enterócitos, parte dos ácidos graxos é reesterificada a triglycerídeos, que são incorporados nas lipoproteínas (principalmente VLDL). Estas são liberadas na circulação linfática e, posteriormente, atingem a circulação sanguínea e são direcionadas aos tecidos periféricos (KOZLOSKI, 2009).

2.7.4 Corpos cetônicos

Entre os corpos cetônicos, o BHB é o que apresenta maior estabilidade no soro/plasma, sendo o mais utilizado como indicador do metabolismo energético. Níveis séricos/plasmáticos de BHB indicam a magnitude do balanço energético negativo (BEN) de animais em situações de alta demanda por glicose, e a eficiência de utilização dos ácidos graxos mobilizados no processo de lipólise (CALDEIRA, 2005). Assim, para avaliar a intensidade do BEN, recomenda-se que os níveis séricos/ plasmáticos de BHB sejam determinados em conjunto com os níveis séricos/ plasmáticos de glicose e com a avaliação do escore de condição corporal (ECC) dos animais. A diminuição da glicemia tem papel fundamental na cetogênese, onde estudos mostram existência de correlação negativa entre glicemia e cetonemia. Em condição de BEN, a baixa disponibilidade de glicose, de oxaloacetato ou de seus precursores leva a diminuição da glicemia e, também, limita a oxidação de acetil-CoA proveniente dos AGNE mobilizados. A acetil-CoA não oxidada é desviada para a cetogênese, o que leva ao aumento da cetonemia (CALDEIRA, 2005).

3. HIPÓTESES E OBJETIVOS

Hipóteses:

1. Fatores intrínsecos (idade em semanas) e extrínsecos (ritmo circadiano, programas de alimentação e intervalo entre refeições) influenciam a probabilidade do início de uma nova refeição em suínos.
2. O programa alimentar de maior intervalo entre refeições diminui a digestibilidade dos nutrientes. Esta hipótese é baseada em que a maior quantidade de alimento ingerida irá passar de forma mais rápida pelo trato gastrointestinal, diminuindo a absorção dos nutrientes em cães.

Dessa forma para investigar as hipóteses acima foram executados dois estudos que objetivaram:

1. Estimar as correlações prandiais e identificar fatores envolvidos na probabilidade dos animais iniciarem uma nova refeição.
2. Avaliar três diferentes programas de alimentação e seu impacto sobre digestibilidade e metabolismo.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17

18
19

CAPÍTULO II

20

21 Efeito das correlações prandiais e da estrutura do comportamento

22 ingestivo de suínos criados em programas de alimentação de precisão

23

24

25

26

27

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas de publicação da **ANIMAL**

29
30 **Correlações prandiais e estrutura do comportamento ingestivo de suínos**
31 **em programas de alimentação de precisão¹**

32 B. C. K. Gomes*, I. Andretta^{*.2}, M. Valk[†], C. Pomar[‡], A. Remus[‡],
33 L. Hauschild[†], M. Kipper^{*} and L. Trevizan^{*}

34

* Department of Animal Science, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 91540-000, Brazil.

³⁷ † Department of Statistics, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto
³⁸ Alegre, Rio Grande do Sul, 91540-000, Brazil.

³⁹ ‡ Sherbrooke Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food
⁴⁰ Canada, Sherbrooke, QC, J1M 0C8, Canada.

43

⁴⁴ ¹ The authors are grateful for the financial support provided by Coordenação de
⁴⁵ Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasília - Brazil).

² Corresponding author: ines.andretta@ufrgs.br.

47

48 **Resumo:** O presente trabalho avaliou dados de suínos em crescimento-
49 terminação mantidos em diferentes programas de alimentação. Os objetivos
50 foram (I) testar se as correlações prandiais e a probabilidade de iniciar uma nova
51 refeição foram afetadas pelo ciclo circadiano, (II) testar se as correlações
52 prandiais e a probabilidade de iniciar uma nova refeição foram afetadas pela
53 idade dos suínos, (III) testar se as correlações prandiais e a probabilidade de
54 iniciar uma nova refeição foram afetadas pelo programa alimentar. Para isso,
55 dados do comportamento alimentar de 70 suínos foram analisados. Durante este
56 período, os animais foram mantidos em sistemas de alimentação convencional
57 (por fases e por grupo) ou de precisão (ajustes diários e individuais). Dados
58 sobre consumo alimentar foram coletados em tempo real usando alimentadores
59 automáticos, resultando em 157.632 visitas registrados durante 84 dias. Diante
60 desse volume de dados, os dados foram filtrados usando o método multivariado
61 no software estatístico R com o fim de indentificar e excluir outliers. O critério
62 para delimitar cada refeição foi definido com base na probabilidade de um animal
63 iniciar uma refeição no próximo minuto em relação ao tempo despendido desde
64 a última refeição. Após a definição do critério de refeição, o banco de dados foi
65 reestruturado, as estatísticas descritivas foram calculadas para caracterizar as
66 variáveis e a probabilidade de os animais iniciarem uma refeição foi analisada
67 novamente. Por fim, as correlações prandiais foram definidas entre o tamanho
68 da refeição e o intervalo antes da refeição (pré-prandial) ou após a refeição (pós-
69 prandial) através de análise de correlação de Pearson. Os resultados baseados
70 na probabilidade de iniciar uma refeição indicaram um critério de refeição de 37
71 minutos. Verificou-se que os suínos podem possuir tipos de regulação diferentes

72 para início de uma refeição (correlações prandiais), tanto na alimentação
73 convencional, quanto no sistema de precisão. Os mecanismos de regulação da
74 fome (pós-prandias) apresentaram correlações mais fortes que os de saciedade
75 (pré-prandiais), ou seja, a quantidade de alimento ingerido em uma refeição
76 influencia o intervalo até a próxima refeição. Além disso, estas correlações
77 diminuem com o aumento da idade dos animais. Os resultados deste estudo
78 também demonstraram que durante a noite houve uma maior probabilidade dos
79 animais iniciarem uma nova refeição após longos intervalos pós refeição. Em
80 animais mais jovens a probabilidade de iniciar a refeição foi maior e em relação
81 ao efeito dos programas de alimentação, os suínos do programa convencional
82 apresentaram probabilidade menor de iniciar uma refeição com base na última
83 refeição. As informações geradas neste estudo ajudam na melhor compreensão
84 dos mecanismos de regulação do comportamento alimentar nos suínos, pois
85 estabeleceu um método para predizer uma nova refeição, onde correlações pre
86 e pós prandias foram afetadas pelos programas alimentares e podem ser
87 aplicadas futuramente no aprimoramento de programas de alimentação de
88 precisão.

89 **Palavras-chave:** behavior; feeding strategy; meals; nutrition; precision nutrition;
90 precision livestock farming.

91

92 **Implicações**

93 A maximização da eficiência alimentar dos suínos com vistas ao menor
94 custo de produção é um dos objetivos da nutrição de precisão. Entender a
95 estrutura prandial e também os fatores que influenciam o comportamento

96 alimentar dos suínos é de suma importância para a correta definição dos
97 programas de alimentação. Adicionalmente, a integração de métodos que
98 permitam estimar critérios de comportamento alimentar em sistemas de
99 monitoramento em tempo real de animais são potenciais ferramentas para
100 identificar animais com problemas sanitários. As informações aprofundadas
101 sobre o comportamento alimentar dos suínos geradas neste estudo podem ser
102 aplicadas no aprimoramento dos programas de alimentação de precisão, com
103 consequente benefício para a sustentabilidade da suinocultura.

104 **Introdução**

105 Os avanços do melhoramento genético, com a seleção de suínos com
106 características superiores para desempenho e composição corporal,
107 influenciaram também seus padrões de alimentação e regulação de consumo
108 (Morgan et al., 2000). Nesse contexto, conhecer o comportamento alimentar dos
109 suínos é decisivo para definir sua influência sobre o desempenho produtivo.
110 Além disso, informações aprofundadas sobre o comportamento alimentar dos
111 suínos são muito úteis na implementação de programas de alimentação de
112 precisão, onde os padrões de uso dos comedouros pelos suínos podem ser
113 afetados pelo comportamento ingestivo da espécie (Andretta et al., 2016;
114 Morgan et al., 2000).

115 A análise das correlações prandiais, a qual avalia a relação da quantidade
116 de alimento consumido na refeição com o intervalo entre refeições, é uma
117 ferramenta importante na compreensão dos mecanismos de regulação de
118 apetite e saciedade dos animais. Nesse sentido, correlações pré-prandiais
119 significantes são a relação entre a quantidade de alimento consumido na refeição

120 e a duração do intervalo antes da refeição, evidenciando mecanismos
121 relacionados à regulação da saciedade (Tolkamp et al., 2012). As correlações
122 pós-prandiais são a relação entre a quantidade da refeição e a duração do
123 intervalo após esta refeição, indicando mecanismos relacionados a regulação do
124 apetite (Savory, 1981; Tolkamp et al., 2012). Uma alta correlação pré-prandial
125 sugere uma maior expressão de mecanismo de regulação da saciedade com
126 consequente diminuição no consumo. Contudo, uma correlação forte pós-
127 prandial sugere uma maior expressão de mecanismos da regulação do apetite
128 com consequente estímulo ao animal para consumir alimento (Howie et al. 2009).

129 Estudos que abordaram correlações prandiais são escassos e
130 frequentemente não são padronizados entre si (Collier et al., 2002; Morgan et
131 al., 2000). Além disso, os estudos também não são conclusivos, principalmente
132 por serem desenvolvidos a partir de bases de dados pequenas (poucos animais
133 e/ou poucas observações por animal). Neste sentido, a exploração em termos
134 probabilísticos de bases de dados grandes, como as disponíveis em sistemas de
135 alimentação eletrônica, pode auxiliar muito na compreensão da estrutura do
136 comportamento alimentar. Esta abordagem já foi aplicada previamente em aves
137 (Tolkamp et al., 2012) e vacas leiteiras (Tolkamp et al., 2000). Porém, não temos
138 conhecimento do uso de metodologia similar para o estudo do comportamento
139 alimentar em suínos. Nesta espécie, investigações sobre uma possível relação
140 entre o comportamento alimentar e os programas nutricionais são bastante
141 escassas e entender o comportamento alimentar natural do animal ajuda a
142 desenvolver programas alimentares adequados ao animal ao mesmo tempo que
143 respeitando o seu comportamento e escolha de como se alimentar. Neste

144 contexto, dados de suínos mantidos em dois sistemas de alimentação
145 (convencional ou de precisão) foram analisados com os objetivos de (I) testar se
146 as correlações prandiais e a probabilidade de iniciar uma nova refeição foram
147 afetadas pelo ciclo circadiano, (II) testar se as correlações prandiais e a
148 probabilidade de iniciar uma nova refeição foram afetadas pela idade dos suínos,
149 (III) testar se as correlações prandiais e a probabilidade de iniciar uma nova
150 refeição foram afetadas pelo programa alimentar.

151 **Material e Métodos**

152 *Construção da base de dados*

154 Os dados usados neste estudo foram previamente descritos por Andretta
155 et al. (2016). Resumidamente, as informações sobre o consumo de ração de 70
156 suínos (35 fêmeas e 35 machos) com o mesmo genótipo de alto desempenho
157 (Fertilis 25 x G-Performer 8.0, Genetiporc Inc., Saint-Bernard, Quebec, Canadá)
158 foram obtidas usando estações automáticas de alimentação (Automatic and
159 Intelligent Precision Feeder, Universidade de Lleida, Lleida, Espanha).

160 Cada estação de alimentação consistia em um alimentador de acesso
161 único no qual os transportadores helicoidais combinavam simultaneamente
162 quantidades volumétricas de até quatro rações armazenadas em
163 compartimentos independentes localizados na parte superior do equipamento
164 (Pomar et al., 2011). O alimentador automático identificava cada suíno que
165 possuía um transponder inserido na orelha direita e depois misturava e distribuía
166 alimentos em resposta a cada demanda dos animais, de acordo com a
167 concentração ótima estimada de lisina para aquele indivíduo e considerando o
168 tratamento experimental ao qual o animal foi atribuído.

169 Um intervalo de tempo foi estabelecido para garantir que os suínos
170 consumissem toda porção antes de solicitar uma nova demanda. O peso da
171 porção ofertada por demanda variou entre 15 g no início e 26 g no final do
172 experimento de acordo com o peso corporal e consumo de ração. O consumo
173 de ração foi ajustado diariamente para atingir o número de demandas em torno
174 de 120-140 por suíno por dia. Cada visita era constituída por diversas demandas
175 e, portanto, pelo somatório do alimento consumido. Suínos normalmente
176 deixavam o alimentador vazio ou com quantidades muito pequenas de sobras
177 do alimento em cada visita, o que garante que cada suíno recebeu a quantidade
178 atribuída de alimento misturado. Todos os alimentadores foram projetados para
179 fornecer refeições a todos os animais, independentemente do tratamento. Esse
180 recurso permitia que todos os animais fossem alojados na mesma baia em um
181 único grupo.

182 Os suínos foram alimentados inicialmente com dieta comercial durante as
183 duas semanas pré-experimentais, após os animais ($30,4 \pm 2,2$ kg) foram
184 distribuídos aleatoriamente aos tratamentos. Durante o experimento, os suínos
185 permaneceram alojados em uma única baia com piso vazado em uma sala
186 ventilada mecanicamente. A temperatura ambiente diminuiu progressivamente
187 de 22 até 18 °C quando os animais atingiram cerca de 100 kg de peso vivo,
188 assegurando assim condições termoneutras. A iluminação fluorescente era
189 controlada por um interruptor temporizador e era fornecida das 0600 h às 1800
190 h. A água foi fornecida com bebedores tipo *nipple* de baixa pressão.

191

192 *Dietas e alimentação*

193 Duas rações experimentais (denominadas A e B) foram formuladas
194 independentemente com base na energia líquida e nos aminoácidos digestíveis
195 usando o mesmo banco de dados de composição de ingredientes, sem
196 promotores de crescimento ou quaisquer outros aditivos (Tabela 1). A ração A
197 foi formulada para atender as exigências de aminoácidos do suíno mais exigente
198 no primeiro dia do período de crescimento e a ração B foi formulada para
199 satisfazer as exigências do suíno menos exigente no último dia da fase de
200 terminação. A composição alimentar final foi obtida misturando os dois alimentos
201 de modo a satisfazer as exigências de lisina estimadas usando um modelo em
202 tempo real (Hauschild et al., 2012). As exigências dos outros aminoácidos foram
203 assumidas como proporcionais às exigências de lisina, de acordo com o perfil de
204 proteína ideal proposto pelo NRC (2012).

205 O ensaio de desempenho consistiu em três fases de alimentação de 28
206 dias cada, totalizando 84 dias. Cinco programas de alimentação (tratamentos)
207 foram testados neste estudo. O tratamento controle (convencional, **CON**)
208 consistiu de um programa trifásico de alimentação obtido pela mistura de
209 proporções fixas das rações A e B. Cada mistura foi determinada durante os três
210 primeiros dias da fase para satisfazer as exigências do animal que ocupasse o
211 percentil 80 da população, condição previamente recomendada para maximizar
212 o ganho de peso corporal da população (Hauschild et al., 2010). Os outros
213 programas consistiam em sistemas multifásicos, nos quais os tratamentos eram
214 fornecidos aos suínos como mistura dos alimentos A e B, cujas proporções eram
215 ajustados diariamente para corresponder a 110% (MP110), 100% (MP100), 90%

216 (MP90) ou 80% (MP80) das exigências nutricionais estimadas de cada suíno
217 individualmente.

218 *Gerenciamento e filtragem dos dados*

219 Os alimentadores foram equipados com uma ferramenta de
220 monitoramento que registrou continuamente cada visita de cada suíno com o
221 tempo de início e término (dia, hora, minuto e segundo) e a quantidade de
222 alimento consumida. Todas as informações coletadas foram usadas para
223 compor o banco de dados, que foi gerenciado e analisado utilizando o R
224 Statistical Software (version 2.14.0; R Foundation for Statistical Computing,
225 Vienna, Austria). O conjunto de dados considerado neste trabalho consistiu de
226 múltiplas variáveis, com muitas informações coletadas através de procedimento
227 automatizado.

228 Diante destas características, o primeiro procedimento foi realizado para
229 filtragem de informações, onde através de análise gráfica, algumas observações
230 atípicas foram detectadas. Assim, os dados de animais com intervalos entre
231 refeições maiores que 720 minutos (12.00 horas; 0.93% das observações do
232 banco inicial) foram excluídos automaticamente por ser um critério temporal.
233 Esses episódios podem estar relacionados com condições fisiológicas atípicas
234 (como processos infecciosos ou inflamatórios sub-clínicos) ou com a perda
235 acidental do transponder identificador. Nesses casos, assim que a perda era
236 percebida, o animal recebia um novo transponder e retornava ao experimento.
237 Porém, havia o registro de um intervalo maior entre refeições causado pelo não
238 reconhecimento do suíno pelo alimentador, ou seja, por um processo não
239 fisiológico. Desta maneira, a aplicação do filtro, permite uma visão mais realista

240 da distribuição dos tempos entre refeições, com menos influência de
241 observações discrepantes.

242 Após análise gráfica do novo banco de dados, foi atribuído um segundo
243 critério de filtro, quando foram descartadas observações de refeições com
244 duração superior a 40 minutos (apenas 2 observações) e menores que 0,05
245 minutos, totalizando um descarte de 0,023% das observações. Após esta
246 filtragem não foram observados mais pontos discrepantes.

247

248 *Critério de refeição*

249 A visita do animal ao alimentador era registrada a partir da detecção
250 do suíno pelo sensor do comedouro e terminava quando este mesmo sensor
251 parava de detectar o animal. Porém, uma refeição pode diferir de uma visita.
252 Nesse trabalho, uma refeição foi considerada em alguns casos, o
253 agrupamento de várias visitas, que foram interrompidas por pausas para
254 descanso, ingestão de água ou interrupção para mudar de comedouro
255 (Bigelow and Houpt, 1988, Morgan *et al.*, 2000). Para isso, foi realizada uma
256 estimativa preliminar da probabilidade do animal iniciar uma nova refeição no
257 próximo minuto (P_{start}) em relação ao tempo desde a última visita ao alimentador.
258 Este procedimento foi realizado utilizando análise de sobrevivência através de
259 um modelo de fragilidade de acordo com o método descrito por Howie et al.
260 (2009). A partir desse procedimento o critério de refeição é estimado como o
261 primeiro ponto máximo da função P_{start} a ser identificado, ou quando P_{start} muda
262 de valor negativo para positivo pela primeira vez no tempo. Ambos (ponto
263 máximo e mudança de valor) são obtidos calculando a diferença entre $P_{start(t)}$ -

264 $P_{start(t-j)}$. Essa função é uma espécie de derivada da função P_{start} , onde j é o
265 intervalo entre duas visitas de consumo de ração. Médias móveis em intervalos
266 de 5 minutos foram aplicadas para reduzir o efeito dessas variações aleatórias
267 na função P_{start} .

268 *Aplicação do critério de refeição e estudo das probabilidades*

269 Após a definição do critério de refeição, uma nova base de dados foi
270 criada utilizando este critério para agrupar visitas que compuseram a mesma
271 refeição. A partir desta base, a duração de cada refeição (minutos) e os
272 intervalos entre refeições (pré-prandial e pós-prandial em minutos) foram
273 calculados e posteriormente usados para as análises de correlações prandiais.

274 Além disso, estatísticas descritivas foram utilizadas para caracterizar as
275 variáveis antes e após o uso do critério de refeição. Uma nova análise de P_{start}
276 também foi realizada para os fatores estudados. O uso desse método permite
277 observar a dinâmica da demanda do alimento ao longo do tempo, prevendo a
278 probabilidade de um animal retornar ao alimentador para uma nova refeição.

279

280 *Correlações prandiais*

281 As correlações prandiais foram obtidas para todos os animais (população)
282 e para cada animal individualmente por meio de correlação de Pearson entre as
283 variáveis 'tamanho da refeição' e 'intervalo antes da refeição' (pré-prandial) ou
284 'intervalo após a refeição' (pós-prandial). Estas correlações foram analisadas em
285 função da idade dos animais, do período circadiano (dia ou noite) e também dos
286 diferentes programas de alimentação.

287

288 **Resultados**

289 *Descrição da base e critério de refeição*

290 Ao longo do experimento, os suínos consumiram alimentos e ganharam
291 peso de acordo com o desempenho esperado para o genótipo e nenhum
292 problema de saúde grave foi detectado, exceto por problemas inflamatórios nos
293 cascos, não relacionados aos tratamentos, que foram identificados em três
294 machos castrados durante a última fase de alimentação. Os animais envolvidos
295 foram isolados do grupo, e seus dados não foram considerados na análise.
296 Respostas detalhadas de desempenho estão disponíveis em Andretta et al.,
297 (2016). Resumidamente, o consumo de ração e a eficiência alimentar não foram
298 influenciados pelos programas de alimentação avaliados.

299 Um total de 157.632 visitas ao comedouro foi registrado na primeira
300 versão da base de dados (usada para estimar o critério de refeição). A
301 probabilidade de iniciar uma refeição mudou de negativa para positiva aos
302 37 minutos (Figura 1), o que foi assumido como o critério de refeição.
303 Portanto, uma refeição é considerada como o agrupamento das visitas
304 sucessivas à primeira demanda de alimento em um período de 37 minutos. Após
305 a definição deste critério, uma nova base de dados foi obtida onde as visitas
306 (primeira versão da base) foram reagrupadas em um total de 38.501
307 refeições.

308 A aplicação do critério de refeição alterou expressivamente as
309 estatísticas descritivas das respostas de comportamento alimentar em
310 relação à base de dados inicial (Tabela 2). Isso evidencia a importância da
311 estimação correta do critério de refeição. Porém, é importante ressaltar que

312 diversos artigos avaliaram o comportamento alimentar sem a adoção deste
313 procedimento, apenas utilizando critérios arbitrários. Esta condição pode
314 levar a interpretações bastante equivocadas do comportamento alimentar
315 dos animais.

316

317 *Efeito do ciclo circadiano, idade e programa de alimentação nas probabilidades*
318 *do animal iniciar uma nova refeição*

319 A probabilidade de iniciar uma refeição aumentou em função do intervalo
320 de tempo desde a refeição anterior (Figura 2). Além disso, essa probabilidade
321 sofreu uma influência circadiana. Uma mudança entre os períodos diurno e
322 noturno foi observada principalmente a partir dos 250 minutos, quando a
323 probabilidade de início de nova refeição foi mais alta durante a noite em relação
324 ao período diurno. Também é possível observar que até aproximadamente 400
325 minutos, tanto durante o dia quanto a noite, os animais mantém um padrão de
326 comportamento alimentar mais homogêneo. Após este período, a variação entre
327 as probabilidades aumenta expressivamente.

328 A idade dos animais também foi um fator importante na análise da
329 probabilidade para início de uma nova refeição (Figura 3). Animais mais jovens
330 (primeiras 3 semanas do experimento) apresentaram probabilidades maiores de
331 iniciar a refeição com base no intervalo desde a última refeição. À medida que a
332 idade dos animais aumentou (outras semanas) houve uma redução sucessiva
333 nas probabilidades.

334 Os programas de alimentação diferiram pouco quanto às probabilidades
335 de início de refeição (Figura 4). Porém, foi possível identificar um agrupamento

336 das probabilidades entre os tratamentos estudados, em que o programa de
337 alimentação convencional (por fases, fornecida por grupo) permaneceu com a
338 menor probabilidade de iniciar uma refeição em comparação com os programas
339 de alimentação de precisão.

340 *Efeito do ciclo circadiano, idade e programa de alimentação nas correlações*
341 *prandiais*

342 Os suínos apresentaram correlações pós-prandiais ligeiramente mais
343 altas em comparação com as pré-prandiais (Figura 5). Os coeficientes de
344 correlação pré e pós-prandiais apresentaram forte variabilidade entre os
345 indivíduos da população, com suínos assumindo valores positivos enquanto
346 outros animais apresentaram correlações negativas. Esta heterogeneidade pode
347 indicar que a estrutura das correlações prandiais é uma característica
348 influenciada também por fatores intrínsecos ao indivíduo.

349 Ambas as correlações (pré e pós-prandiais) foram mais altas nas
350 primeiras semanas, enfraquecendo gradualmente ao longo do tempo (Tabela 3).
351 As correlações pré-prandiais foram maiores durante a noite em comparação com
352 o período diurno. Por outro lado, as correlações pós-prandiais foram mais altas
353 durante o dia. Houve pouca diferença entre os programas de alimentação
354 testados quanto as correlações prandiais (Tabela 4), com pequena superioridade
355 para o programa convencional em relação aos programas de alimentação de
356 precisão.

357 Todas as correlações pós-prandiais foram significativas ($P < 0,001$). O
358 mesmo aconteceu nas respostas pré-prandiais, com exceção das correlações
359 na 10^a, 11^a e 12^a semanas experimentais ($P > 0,05$).

361 **Discussão**

362 *Critério de refeição*

363 Estimar o consumo de ração dos animais é uma tarefa complexa, pois a
364 ingestão de alimento depende de diversos fatores intrínsecos e extrínsecos ao
365 animal. Neste sentido, compreender os mecanismos que definem o tamanho das
366 refeições e o intervalo entre as refeições pode auxiliar na predição do consumo
367 voluntário de ração. Além disso, é importante elucidar se o tamanho da refeição
368 é controlado pelo intervalo de tempo precedente àquela refeição ou se o intervalo
369 entre refeições controlado em função do tamanho da mesma refeição.

370 Para compreender o comportamento alimentar dos suíños primeiro é
371 necessário definir criteriosamente as refeições dentro de um banco de dados.
372 Os animais invariavelmente fazem curtas pausas durante uma refeição. Nesta
373 condição, é comum obter vários registros por animal nos alimentadores
374 eletrônicos. Dessa forma, esses eventos, embora sejam intimamente associados
375 ou separados por intervalos muito curtos de tempo (exemplo: segundos), são
376 identificados como mais de uma visita ao comedouro. Para uma avaliação
377 adequada das estruturas prandiais estas pausas curtas (intra-refeição) devem
378 ser diferenciadas das pausas mais longas que ocorrem entre as refeições. A
379 metodologia proposta por Howie et al. (2009) e utilizada nesse estudo representa
380 as estruturas prandiais possibilitando dessa forma uma adequada definição do
381 critério de refeição. Apesar da importância deste procedimento, a maioria dos
382 estudos recentes têm definido o critério de refeição de forma arbitrária ou sem o
383 uso de uma metodologia adequada. Por exemplo, em estudo realizado por

384 Boekkers e Koene (2003), em frangos de corte e poedeiras, o início de uma
385 refeição foi definido como o momento em que a ave bicava na ração e o final de
386 uma refeição foi definido como o momento em que a ave não bicava na ração
387 por 10 seg ou mais pelo fato de parecer-se pelas observações piloto que as aves
388 tiveram outro comportamento depois de terem parado de comer por 10 seg., um
389 critério totalmente arbitrário.

390 Após análise, o critério de refeição foi estimado em 37 minutos no
391 presente estudo. A partir deste critério, as visitas de um mesmo animal ao
392 comedouro separadas por intervalos menores que 37 minutos (ou 2.040
393 segundos) foram agrupadas como uma única refeição. Poucos estudos sobre
394 critério de refeição na espécie suína estão disponíveis em literatura). Howie et
395 al. (2009) obtiveram um critério de refeição de 1.200 segundos para frangos de
396 corte e 1.725 segundos para patos Pekin. Drouilhet et al. (2016) obtiveram um
397 critério de refeição para patos Pekin semelhante ao encontrado em nosso estudo
398 (2.208 segundos). Devido às diferenças importantes entre as espécies
399 anteriormente citadas, é importante que novos estudos sejam desenvolvidos
400 nessa área, especialmente com suínos. Segundo nosso conhecimento é a
401 primeira vez que um modelo de probabilidade é usado como critério para definir
402 uma refeição em suínos, e foi possível observar uma grande diferença no
403 intervalo de agrupamento de refeições. Um estudo realizado com o mesmo
404 banco de dados desse estudo (Andretta *et al.*, 2016) determinou que uma
405 refeição incluía pausas de 2 minutos entre as visitas. Um outro estudo feito com
406 alimentadores automáticos usou a distribuição cumulativa de visitas (Remus,
407 2018) para determinar que uma refeição incluía todas as demandas de alimentos

408 iniciadas em sequência considerando pausas de 5 minutos na detecção do
409 brinco eletrônico. Outro estudo (Bigelow and Houpt, 1988), no qual observadores
410 registravam o número de refeições, determinou que uma refeição era a
411 sequência de visitas ao comedores com um intervalo entre elas menor de 10
412 minutos. Deste modo, o presente estudo mostra que a utilização de um modelo
413 probabilístico para definir o critério de refeição pode tornar este mais estável que
414 a definição subjetiva de uma refeição. O uso de uma metodologia adequada na
415 definição do critério de refeição é de suma importância, pois o uso de um critério
416 inadequado poderá dividir as refeições em porções menores (Tolkamp, 2011).
417 Isso pode afetar as correlações entre o tamanho da refeição e a duração dos
418 intervalos anteriores e posteriores, que são interpretados como correlações pré-
419 prandiais e pós-prandiais (Geary, 2005). Zorrilla et al. (2005), por exemplo, ao
420 aplicar um critério de refeição arbitrário para ratos observaram que a privação de
421 alimento em ratos resultava em um aumento na frequência de refeições, sem
422 alteração no tamanho das refeições. Contudo, quando um critério de refeição foi
423 estimado através de um método apropriado, os resultados passaram a indicar
424 que a privação alimentar implicava no aumento do tamanho da refeição, mas
425 não da frequência. Da mesma forma, no presente estudo, as estatísticas
426 descritivas diferiram fortemente entre a base de dados inicial (dados brutos) e
427 aquela revisada considerando o critério de refeição.

428 *Descrição da base de dados*

429 Os padrões de alimentação dos suínos variaram muito dentro da
430 população (entre indivíduos). É importante ressaltar que esta heterogeneidade
431 nas respostas de comportamento aconteceu apesar dos animais serem

432 homogêneo para diversas características, como linhagem genética, origem e
433 idade. Além disso, todos os animais permaneceram alojados na mesma baia e
434 foram expostos a condições semelhantes em termos de ambiência e manejo. É
435 possível inferir, portanto, que a variação nas respostas de comportamento
436 alimentar seria ainda maior se analisada em uma condição comercial, com lotes
437 de animais com características mais heterogêneas. Além disso, é possível
438 sugerir que as características individuais (fatores intrínsecos ao animal) são um
439 componente determinante para a manifestação do comportamento alimentar.

440 Mais estudos são necessários para identificar e entender melhor a
441 influência desses fatores. Neste trabalho, o grande conjunto de dados
442 disponíveis permitiu estimar um critério de refeição e analisar detalhadamente
443 as mudanças nas probabilidades em função do período circadiano, dos
444 tratamentos e da idade dos animais.

445

446 *Probabilidade de iniciar uma refeição - efeito circadiano*

447 Os resultados desse estudo demonstraram que durante a noite houve
448 uma maior probabilidade dos animais iniciarem uma nova refeição após longos
449 intervalos pós-refeição comparado a intervalos curtos. Metodologias anteriores
450 (Slater & Lester, 1982) indicaram que a probabilidade de os animais iniciarem
451 uma refeição é independente do tempo desde a última refeição. No entanto,
452 segundo o conceito de saciedade, ao final de uma refeição quando um animal
453 está saciado a probabilidade de iniciar uma nova refeição logo em seguida é
454 baixa; mas aumenta com o passar do tempo. Em nosso estudo, essa condição foi
455 identificada no período noturno. Porém, durante o dia, a condição foi

456 observada apenas nos primeiros minutos iniciais, não sendo claramente
457 observada no decorrer do intervalo de probabilidade. A dificuldade para
458 estabelecer um padrão de comportamento após períodos mais longos sem
459 refeição pode ser explicada pela complexidade do comportamento dos suínos,
460 que permanecem mais ativos durante o dia, dividindo seu tempo de alimentação
461 com outras atividades, como as de interação social e exploratória e o sono.

462

463 *Probabilidade de iniciar uma refeição - efeito da idade*

464 A probabilidade de iniciar uma nova refeição com base no intervalo desde
465 a última refeição foi maior nos animais mais jovens (ou seja, nas primeiras
466 semanas do período experimental). Estes resultados podem estar relacionados
467 com o perfil mais ativo dos animais jovens. Além disso, a alta taxa de deposição
468 proteica associada à baixa capacidade digestiva pode ser um importante fator
469 impulsor do comportamento de consumo alimentar dos suínos em fase de
470 crescimento. Assim, suínos jovens tendem a ir mais vezes ao comedouro, a fim
471 de obter uma boa relação de nutrientes para atender o potencial de deposição o
472 muscular (Forbes, 2007).

473 *Probabilidade de iniciar uma refeição - efeito dos programas de alimentação*

474 A principal diferença observada foi entre as probabilidades estimadas
475 para o programa de alimentação convencional (por fase e por grupo), em relação
476 aos outros programas de alimentação (diário e individual), onde a probabilidade
477 de iniciar uma nova refeição com base na última refeição foi menor no programa
478 de alimentação convencional. Essa condição pode estar associada com os
479 níveis nutricionais ofertados aos suínos. Os animais do programa convencional

480 receberam dietas com maior concentração de lisina e, consequentemente,
481 apresentaram uma probabilidade menor de iniciar uma refeição com base no
482 intervalo desde a última refeição. Alguns estudos prévios descreveram
483 alterações no consumo de ração em função da suplementação de lisina nas
484 dietas (Sparkes et al., 1981). O mesmo não foi observado neste estudo, onde os
485 animais apresentaram médias de consumo diário de ração semelhantes entre os
486 tratamentos (Andretta et al., 2016). Apesar de não haver diferença no consumo
487 de ração, os resultados deste trabalho indicam alterações nos mecanismos da
488 saciedade relacionadas provavelmente ao aporte de aminoácidos nas dietas, o
489 que pode estar intimamente ligado ao metabolismo destes nutrientes quando
490 ingeridos em diferentes quantidades pelos animais. Futuros estudos são
491 necessários para melhor elucidar essa relação e também para que as
492 especificidades do comportamento alimentar possam ser consideradas na
493 definição de programas de alimentação mais precisos.

494

495 *Correlações prandiais*

496 Quando o objetivo é estabelecer um programa alimentar que considere as
497 exigências nutricionais dos suínos em contexto de população, é imprescindível
498 que a variabilidade entre os animais seja conhecida. Isso porque a resposta
499 média da população a uma determinada estratégia alimentar pode ser diferente
500 da resposta do indivíduo médio da mesma população (Pomar et al., 2003).
501 Assim, embora complexo, é de suma importância considerar a heterogeneidade
502 das populações em termos de desempenho e exigências nutricionais. A alta
503 variação observada nas correlações prandiais obtidas neste estudo mostra que

504 a heterogeneidade em termos de comportamento alimentar também merece
505 destaque em estudos futuros de nutrição de precisão.

506 As correlações prandiais são importantes para compreender melhor os
507 sinais regulatórios presentes no metabolismo dos suínos. Em termos gerais, as
508 refeições causam sensação de saciedade nos animais. Por isso, a probabilidade
509 de um animal retornar ao comedouro depois de uma refeição deve inicialmente
510 ser baixa, mas depois vai aumentando conforme o mecanismo de saciedade
511 perde força (Tolkamp, 2012).

512 Uma alta correlação entre o tamanho da refeição e o intervalo de tempo
513 após a refeição é esperada quando a ingestão é controlada por mecanismos
514 regulatórios da saciedade. Ou seja, o animal iniciará uma nova refeição quando
515 a sensação de saciedade estiver abaixo de um ponto crítico. Já quando o
516 controle pela fome é predominante, espera-se encontrar uma alta correlação
517 entre o tamanho da refeição e o intervalo de tempo anterior a esta refeição. Pra
518 mim essa conversa é a mesma coisa, fome e saciedade são os dois lados de
519 uma mesma moeda

520 As correlações observadas neste estudo, embora foram relativamente
521 baixas, são semelhantes às observadas em estudo anterior desenvolvido com
522 outras espécies (Tolkamp et al., 2012). Esta condição pode estar associada ao
523 alto número de indivíduos e de observações nos bancos de dados, assim como
524 à variabilidade natural das características de comportamento entre os animais
525 da população.

526 A grande maioria das correlações pré-prandiais e pós-prandiais
527 identificadas em nosso estudo foram significativas. Condição diferente foi

528 descrita por Tolkamp et al. (2012), quando apenas uma proporção pequena da
529 variação no tamanho da refeição foi relacionada à variação no intervalo de tempo
530 após refeição, sem qualquer efeito da idade das aves nesta resposta.

531 Neste estudo, as correlações pré-prandiais foram mais altas durante a
532 noite, indicando influência do mecanismo de saciedade neste período. Os suínos
533 com correlações pré-prandiais mais altas podem ter sido incapazes de se
534 alimentar livremente durante o pico da atividade de alimentação (período diurno)
535 e, portanto, podem ter sido forçados a se alimentar em outros momentos
536 (período noturno) onde o consumo de ração foi maior. Esta hipótese precisa ser
537 confirmada em estudos futuros, que considerem a relação de dominância não
538 apenas como fator influente no desempenho e no comportamento alimentar, mas
539 também como possível influenciador nas correlações prandiais e na forma como
540 o animal reage aos mecanismos de saciedade.

541 As correlações pós-prandiais mais altas foram observadas durante o dia.
542 Ou seja, o mecanismo de fome influenciou no período diurno. Além disso, em
543 comparação com as correlações pré-prandiais, o mecanismo de fome teve
544 correlações mais altas.

545 Quando a saciedade é o principal fator de controle, espera-se que os
546 animais regulem o intervalo após a refeição com base no tamanho da refeição
547 anterior (Maselyne et al., 2015). A maioria dos estudos com animais que se
548 alimentam *ad libitum* são regulados pela saciedade (Bokkers e Koenne, 2003;
549 Tolkamp et al., 2012) e, nesses casos, os mecanismos de fome desempenham
550 papel apenas em situações específicas. Em nosso estudo, essa condição de
551 predominância de mecanismos de saciedade foi observada apenas durante o

552 período noturno (que equivale a menor parte do tempo). Neste contexto, é
553 importante considerar que o tipo de correlação prandial pode ser uma medida do
554 controle comportamental dos indivíduos, influenciada por fatores como a espécie
555 e a competição social pelo acesso ao alimentador (Young & Lawrence, 1994;
556 Zorilla et al., 2005).

557 Outra condição a ser ressaltada é que a variação entre indivíduos quanto
558 ao padrão alimentar foi menor nas primeiras semanas do experimento. Isso pode
559 indicar que a variabilidade entre os indivíduos aumenta com o passar do tempo
560 também para as características de comportamento alimentar. Assim, embora
561 todos os indivíduos tenham sido expostos ao mesmo ambiente, eles expressam
562 diferentes comportamentos naquela condição.

563 Este trabalho está inserido em uma área ainda muito carente de
564 informações. Assim, apesar de se tratar de um estudo teórico e complexo, os
565 resultados obtidos são de grande valia para pesquisadores e nutricionistas. A
566 abordagem empregada permitiu identificar que mecanismos de fome tiveram
567 correlações mais fortes durante o período diurno. Além disso, os resultados
568 indicaram que a probabilidade de iniciar uma refeição não aumenta
569 monotonicamente em função do tempo desde a refeição anterior, mas apresenta
570 comportamentos característicos em cada fase pós-prandial. Esse é um método
571 empregado para um indivíduo médio, onde um animal pode variar para o outro.
572 O uso da média do grupo limita a aplicação para detecção de doenças, uma vez
573 que cada animal possui um padrão de consumo individual. Se bem empregado
574 em estudos futuros, o método de análise proposto neste artigo pode auxiliar no

575 melhor entendimento do comportamento alimentar e das relações prandiais dos
576 suínos em diferentes condições de produção e de alimentação.

577 **Referências**

- 578 Andretta I, Pomar C, Rivest J, Pomar J, Radunz J 2016. Precision feeding can
579 significantly reduce lysine intake and nitrogen excretion without compromising
580 the performance of growing pigs. *Animal* 10(7), 1371-1147.
581 Andretta I, Pomar C, Kipper M, Hauschild L and Rivest J 2016. Feeding behavior
582 of growing-finishing pigs reared under precision feeding strategies. *Journal of*
583 *animal science* 94, 3042-3050.
584 Andretta I, Pomar C, Rivest J, Pomar J, Lovatto PA, Radünz Neto J 2014. The
585 impact of feeding growing-finishing pigs with daily tailored diets using precision
586 feeding techniques on animal performance, nutrient utilization, and body and
587 carcass composition. *Journal of Animal Science* 92(9), 3925-3936.
588 Basso B, Marie-Etancelin C and Ricard E 2014. Detailed analysis of the individual
589 feeding behavior of male and female mule ducks. *Journal of Animal Science* 92,
590 1639-1646.
591 Bigelow JA and Houpt TR 1988. Feeding and drinking patterns in young pigs.
592 *Physiology & Behavior* 43, 99-109
593 Drouilhet L, Monteville R, Molette C, Lague M, Cornuez A, Canario L, Ricard E,
594 Gilbert H 2016. Impact of selection for residual feed intake on production traits
595 and behavior of mule ducks. *Poultry Science* 95(9), 1999-2010.
596 Forbes J M 1997. Food preferences in farm animals: why don't they always
597 choose wisely? *Proceedings of the Nutrition Society* 54, 429-440.
598 Geary N 2005. A new way of looking at eating. *American Journal Physiology*
599 *Regulatory Integrative Comparative Physiology* 288, 1444-1446.
600 Hauschild L, Pomar C and Lovatto PA 2010. Systematic comparison of the
601 empirical and factorial methods used to estimate the nutrient requirements of
602 growing pigs. *Animal* 4, 714-723.
603 Hauschild L, Lovatto PA, Pomar J and Pomar C 2012. Development of
604 sustainable precision farming systems for swine: estimating real-time individual
605 amino acid requirements in growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science* 90,
606 2255-2263.
607 Howie J A, Tolkamp B J, Avendaño S, Kyriazakis, I 2009. A novel flexible method
608 to split feeding behaviour into bouts. *Applied Animal Behaviour Science* 116, 101-
609 109.
610 Maselyne J, Saeysa W and Van Nuffel, A 2015. Review: Quantifying animal
611 feeding behaviour with a focus on pigs. *Physiology & Behavior* 138, 37-53.

- 612 Morgan C A, Emmans G C, Tolkamp B J, Kyriazakis, I 2000. Analysis of the
613 feeding behavior of pigs using different models. *Physiology & Behavior* 68, 395-
614 403.
- 615 NRC 2012. Nutrient Requirements of Swine: Eleventh Revised Edition. The
616 National Academies Press.
- 617 Pomar C, Kyriazakis I, Emmans GC and Knap PW 2003. Modeling stochasticity:
618 Dealing with populations rather than individual pigs. *Journal of Animal Science*
619 81, 178-186.
- 620 Pomar J, López V and Pomar C 2011. Agent-based simulation framework for
621 virtual prototyping of advanced livestock precision feeding systems. *Computers
and Electronics in Agriculture* 78, 88-97.
- 623 Remus A 2018. The ideal protein profile for growing-finishing pigs in precision
624 feeding systems: threonine. Université Laval.
- 625 Savory C J 1981. Correlations between meals and inter-meal intervals in
626 Japanese quail and their significance in the control of feeding. *Behavioural
processes* 6(1), 23-36.
- 628 Slater P J B and Lester N P 1982. Minimising Errors in Splitting Behaviour into
629 Bouts. *Behaviour* 79(2), 153-161.
- 630 Sparkes G M, Cole D J A and Lewis D 1981. The effect of dietary-protein level
631 on voluntary feed-intake in the pig. *Animal Production* 32, 356-357.
- 632 Tolkamp B, Howie A J, Bleib A G T, Kyriazakisc L 2012. Prandial correlations
633 and the structure of feeding behavior. *Applied Animal Behaviour Science* 137,
634 53-65.
- 635 Tolkamp B J, Allcroft D J, Barrio J P, Bley T A G, Howie J A, Jacobsen T B,
636 Morgan C A, Schweitzer D P N, Wilkinson S, Yeates M P, Kyriazakis I 2011. The
637 temporal structure of feeding behavior. *American Journal Physiology Regulatory
Integrative Comparative Physiology* 301, 378-393.
- 639 Zorrilla E P, Inoue K, Fekete E M, Tabarin A, Valdez G R, Koob G F 2005.
640 Measuring meals: structure of prandial food and water intake of rats. *American
641 Journal Physiology Regulatory Integrative Comparative Physiology* 288, 1450-
642 1467.
- 643 Young R J, Lawrence A B 1994. Feeding behaviour of pigs in groups monitored
644 by a computerized feeding system. *Animal Science* 58, 145-152.

645 **Tabela 1.** Ingredientes e composição química das dietas experimentais.

	Alimento A	Alimento B
	Alta densidade de nutriente	Baixa densidade de nutriente
Ingredientes fórmulas, base de alimentação (%)		
Trigo	15.0	15.0
Milho	54.8	83.2
Soja	25.4	0.17
Limestone	1.61	0.42
Fosfato dicálcico, 21%	1.22	-
Sal	0.63	0.50
DL-Metionina	0.09	-
L-Lisina HCL	0.44	0.09
L-Treonina	0.13	-
Colina 60, 51.7%	0.10	0.10
Vitaminas e mineral premix ¹	0.50	0.50
Chemical composition		
Matéria seca, %	89.6	87.9
PB, %	16.4	7.8
Total lisina, %	1.37	0.33
SID ² lisina, calculada ³ , %	1.15	0.26
Energia metabolizável, calculado ³ , MJ/kg	13.0	13.3
Net energy, calculado ³ , MJ/kg	9.7	10.6
Cálcio, %	0.92	0.21
Total fósforo, %	0.60	0.29
Fósforo digestível, calculado ³ , %	0.32	0.07
Fibra bruta, %	2.46	2.09
Cinza, %	5.36	2.33

646 ¹ A pré-mistura forneceu pelo menos as seguintes quantidades de nutrientes por quilograma:
 647 vitamina A, 456 000 UI; vitamina D, 45 600 UI; vitamina E, 1 400 UI; vitamina K, 80 mg; vitamina
 648 B12, 1,2 mg; niacina, 800 mg; ácido pantotênico, 600 mg; piridoxina, 80 mg; riboflavina, 120 mg;
 649 tiamina, 80 mg; cobre, 4,9 g; iodo, 12 mg; ferro, 4 g; manganês, 2,5 g; selênio, 12 mg; zinco, 6,1
 650 g.

651 ² Digestivo ileal padronizado.

652 ³ Os valores para suínos em crescimento foram estimados a partir da composição bruta dos

653 ingredientes de acordo com o EvaPig. (Software Version 1.3.1.4, INRA, Saint-Gilles, France).
654

655 **Tabela 2.** Descrição das respostas do comportamento alimentar de suínos em
 656 crescimento e terminação antes e após a revisão, considerando o
 657 critério da refeição

Resposta	Mínimo	1º quartil	Mediana	Média	3º quartil	Maximo
Primeira base de dados ¹						
Intervalo entre refeições, min	0.01	0.05	0.25	43.6	25.5	719.8
Duração por refeição, min	0.07	0.61	1.11	2.03	2.31	30.0
Ingestão por refeição, g	10.7	21.0	44.0	89.5	104.8	2,000.00
Segunda base de dados ²						
Intervalo entre refeições, min	34.0	83.2	141.5	198.3	242.4	998.3
Duração da refeição, min	0.06	5.05	9.33	12.95	15.65	149.0
Ingestão por refeição, g	14.4	153.8	305.2	358.9	504.8	1,000.00

658 ¹ Usado para estimar o criterio de refeição.

659 ² Após a aplicação do critério de refeição.

660 **Table 3.** Correlações pré e pós-prandiais agrupadas em função da semana de experimento e do período circadiano

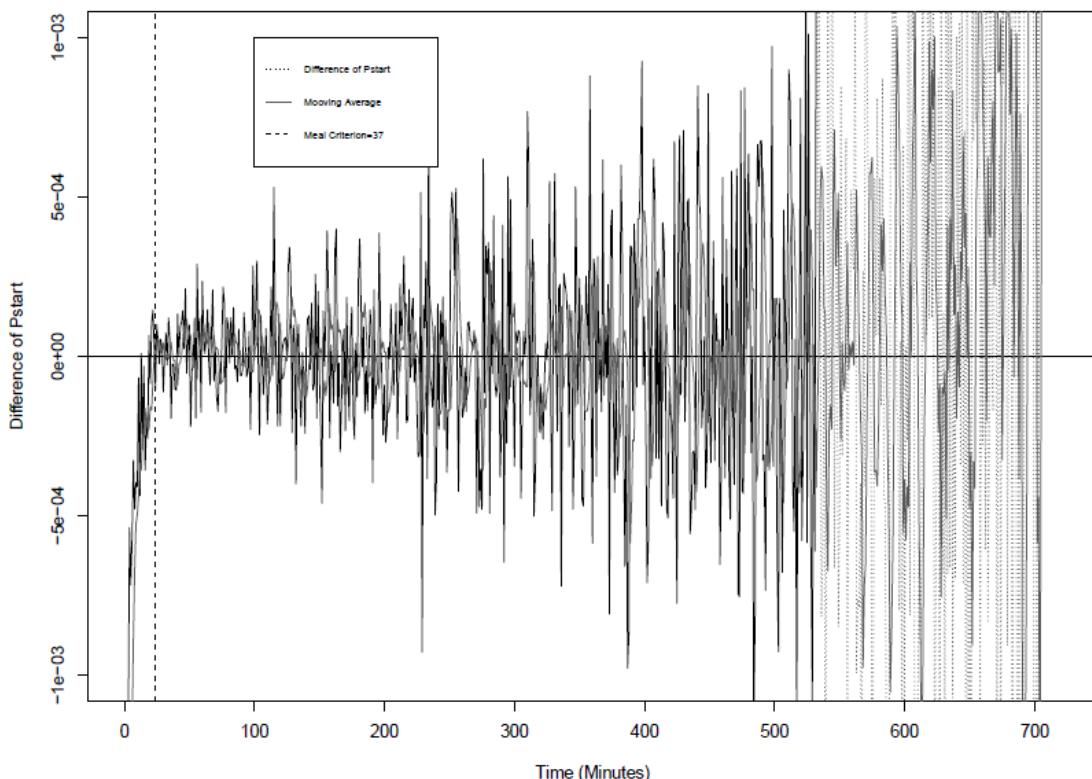
Correlações ¹	Semanas											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Correlação pré-prandial												
Corr.	0.23	0.21	0.18	0.18	0.13	0.11	0.10	0.13	0.07	0.02	0.02	-0.02
P-valor ²	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.2140	0.2620	0.3770
Corr. dia	0.18	0.19	0.14	0.13	0.09	0.07	0.09	0.09	0.06	0.06	0.02	0.03
P-valor	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.015	0.287	0.161
Corr. noite	0.26	0.25	0.33	0.28	0.24	0.21	0.14	0.22	0.16	0.13	0.14	0.15
P-valor	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Correlação pós-prandial												
Corr.	0.26	0.23	0.27	0.24	0.21	0.12	0.20	0.25	0.23	0.23	0.16	0.14
P-valor	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Corr. dia	0.32	0.28	0.35	0.30	0.24	0.13	0.22	0.27	0.22	0.24	0.17	0.14
P-valor	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Corr. noite	0.19	0.24	0.24	0.22	0.23	0.11	0.19	0.19	0.24	0.18	0.14	0.13
P-valor	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

661 ¹ Estimativas dos coeficientes de correlação pré e pós-prandial foram calculadas como correlação de Pearson entre o tamanho da refeição e a duração do
662 intervalo precedente (pré-prandial) ou subsequente (pós-prandial) a refeição.

663 **Table 4.** Correlações pré e pós-prandiais agrupadas em função dos programas
664 de alimentação.

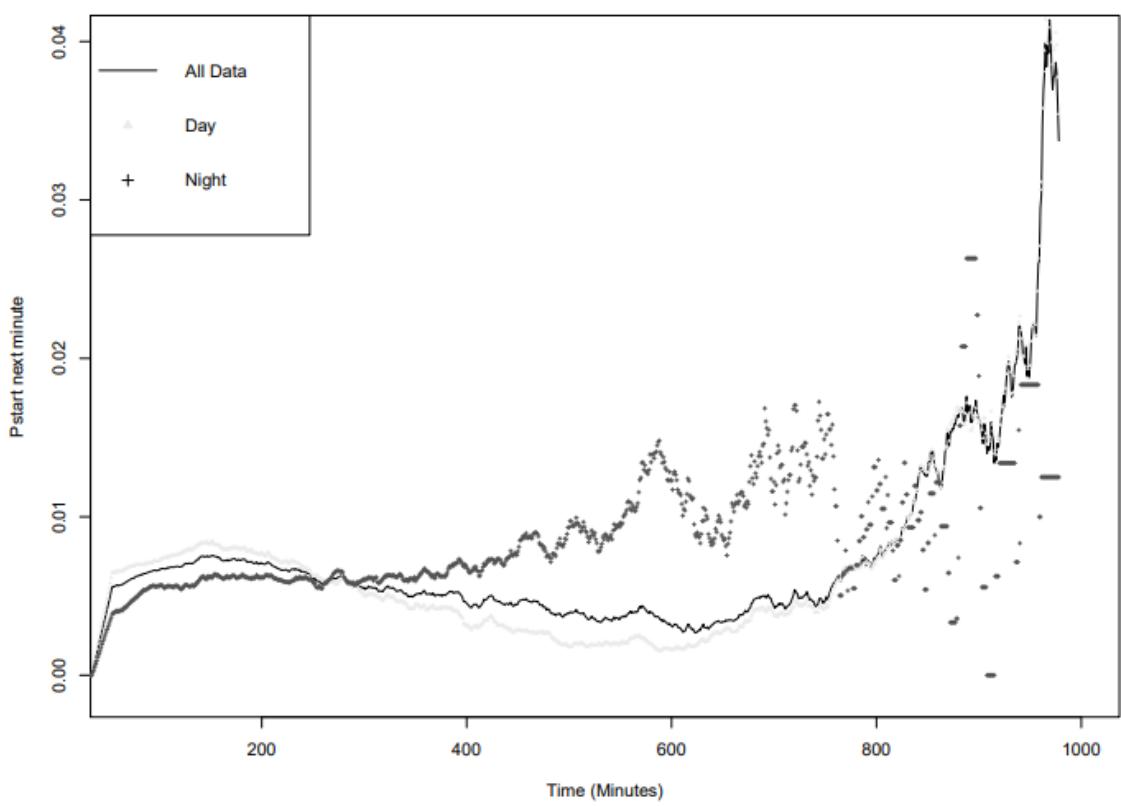
Correlações ¹	Programas de alimentação ¹				
	3P	MP110	MP100	MP90	MP80
Corr. pré-prandial	0.14	0.11	0.13	0.14	0.13
P-valor ²	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Corr. pós-prandial	0.26	0.23	0.23	0.20	0.21
P-valor	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

665 ¹ Programa de alimentação trifásica fornecido pelo grupo (3P) ou programas de alimentação
666 diária fornecidos individualmente para atender 110% (MP110), 100% (MP100), 90% (MP90) ou
667 80% (MP80) das necessidades nutricionais estimadas.



668

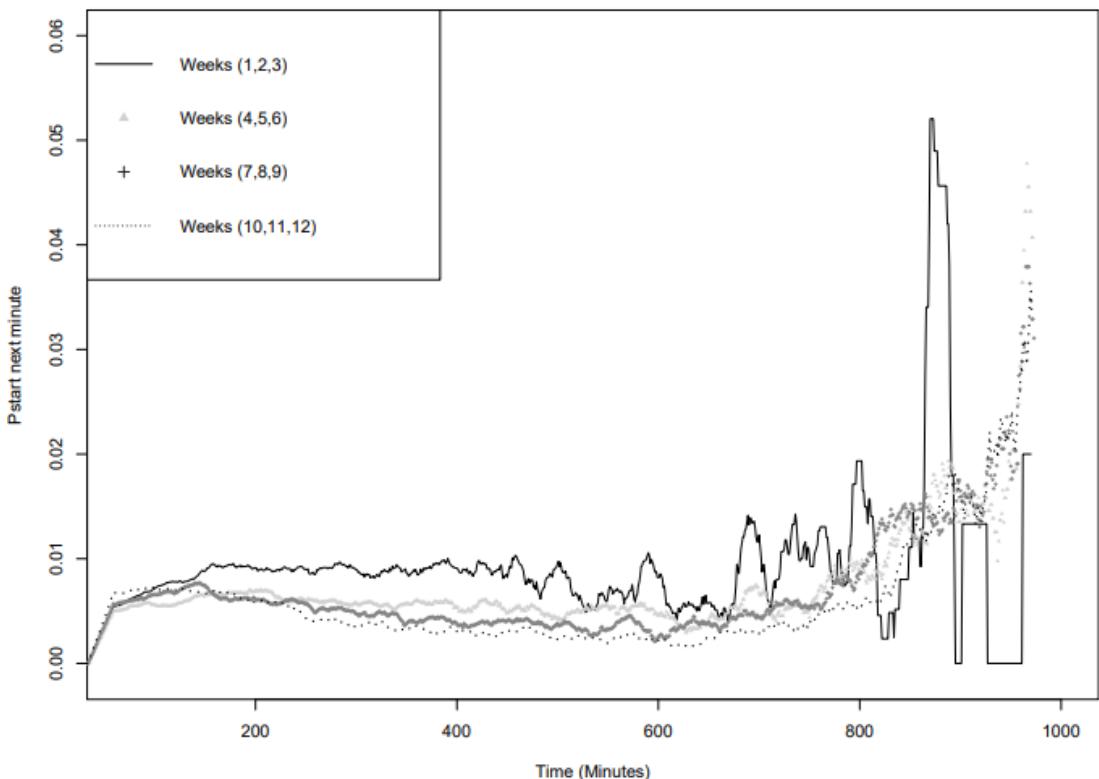
669 **Figura 1.** Probabilidade de iniciar uma refeição (P_{start}) plotada em relação ao
670 intervalo entre refeições (Time)



671

672 **Figura 2.** Probabilidade de o animal iniciar uma refeição de acordo com o
673 intervalo desde a última visita - efeito circadiano

674

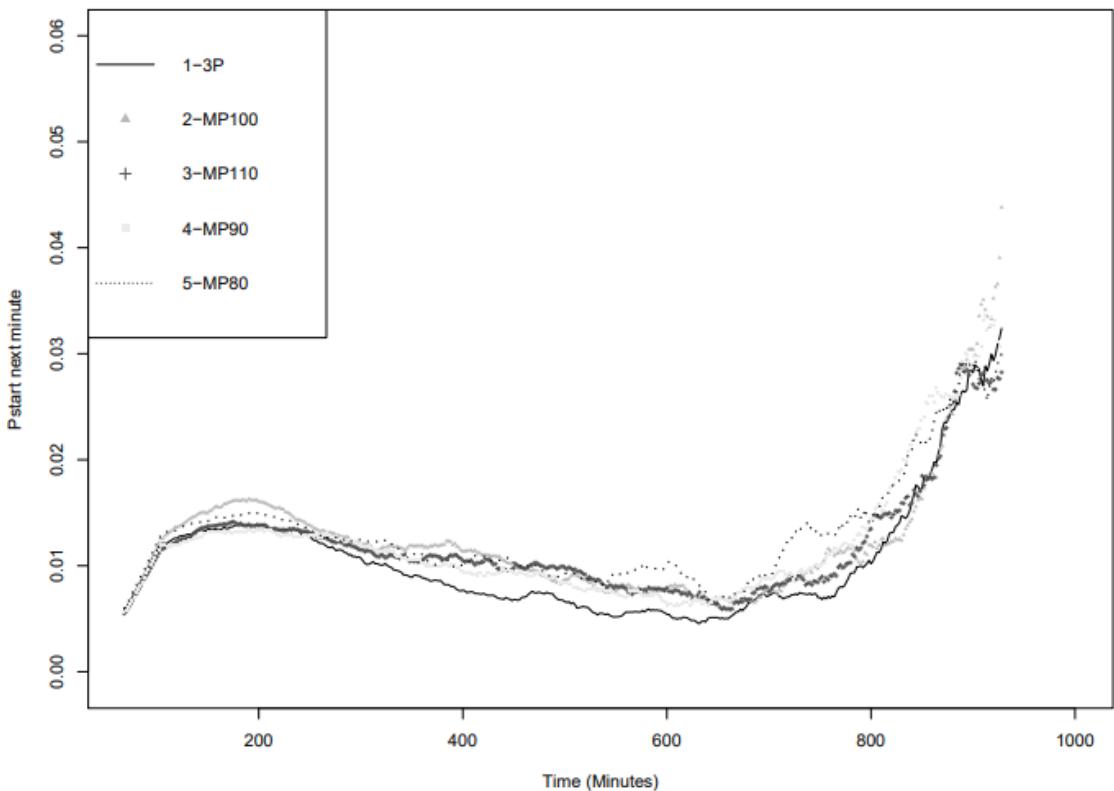


675

676

677

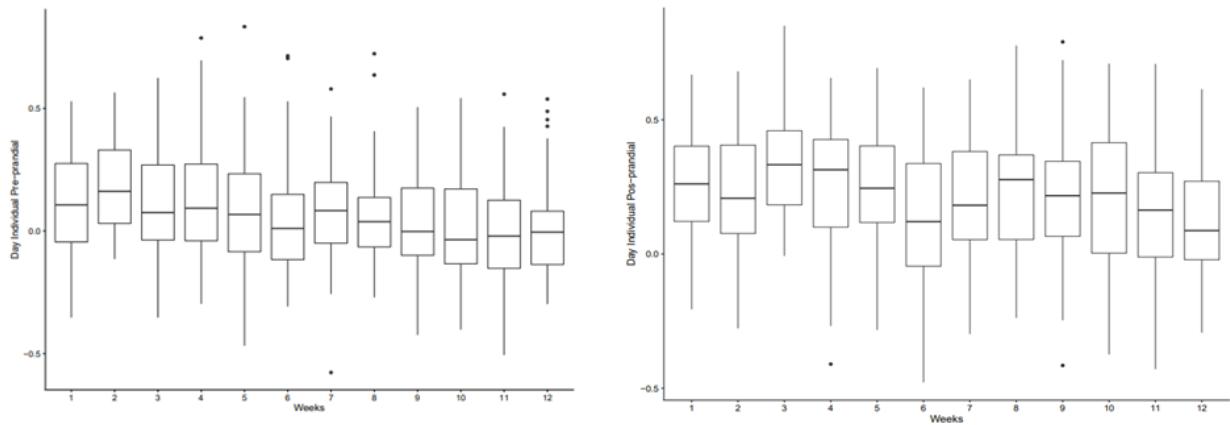
Figura 3. Probability of the animal starting a meal according to the interval since the last visit – age effect



678

679 **Figura 4.** Probabilidade de o animal iniciar uma refeição de acordo com o
680 intervalo desde a última visita - efeito da idade ¹

681 ¹Programa de alimentação trifásico fornecido pelo grupo (3P) ou programas de alimentação diária
682 fornecidos individualmente para atender a 110% (MP110), 100% (MP100), 90% (MP90) ou 80%
683 (MP80) das necessidades nutricionais estimadas.



684

685 **Figura 5.** Dispersão (entre indivíduos) das correlações pré e pós-prandiais agrupadas
686 em função da semana de experimento

CAPÍTULO III

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas de publicação da
JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE

Running head: Feeding behavior in adult dogs¹

**Different feeding programs affect non-esterified fatty acids, glucose, and
triglycerides levels of adult dogs²**

B. C. K. Gomes^{3*}, I. Andretta*, C. Orso*, S. F. Valle[†], and L. Trevizan*

* Department of Animal Science, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto

Alegre, Rio Grande do Sul, 91540-000, Brazil

† Department of Veterinary, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre,

Rio Grande do Sul, 91540-000, Brazil

¹ The authors are grateful for the financial support provided by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasília - Brazil)

ABSTRACT: Regarding the original feed behavior of dog's ancestors the feed behavior of domestic dogs has been changed considerably. In essence, they replaced large meals with a long interval between meals by intervals of 12 h or less what may represent physiological and metabolic challenges. The present study evaluated three different feeding programs based on raw chicken diet and their interference on the absorption of nutrients and metabolism of adult dogs. Twelve young adult Beagle dogs ($3 \pm XX$ yr, 6 males and 6 females) were kept in an balanced incomplete Latin square design, consisting of three treatments and two periods (block). Dogs were fed 3 different programs: 50/50% - dogs fed twice a day with 50% of maintenance energy requirement (MER, kcal/day = $120 [\text{body weight, kg}]^{0.75}$) in a meal (12h interval between meals); 100% - dogs fed one meal MER daily (24h interval); 200% - dogs fed each two days with double MER (48h interval). Digestibility, water balance, body weight, urinary/fecal characteristics and the impact on the plasma non-esterified fatty acid (NEFA), beta-hydroxybutyrate (BHB), glucose (GLU), and triglycerides (TG) were measured after 14 d of adaptation at time 0 (before feeding), 12, 24, 36, and 48h after the first meal. Dogs fed with a longer interval between meals showed greatest weight loss ($P < 0.0210$). Different feeding programs did not interfere on nutrients and energy digestibility, also it did not change the fecal score, or urine characteristics ($P > 0.05$). The group with a longer interval between meals (200%) showed the highest ($P < 0.0001$) concentrations of NEFA in the plasma. The variables TG and GLU showed lowest values from 24 to 48h ($P < 0.01$). No differences in ketone bodies were observed among treatments. Intervals between meals of 12, 24, and 48 hours do not affect nutrient and digestibility. Feeding dogs each 48h improved weight loss and NEFA

concentrations, which may indicate a higher lipid turnover and have some implications on the weight loss in dogs.

Key words: behavior, energy density, meals, nutrition

INTRODUCTION

The natural selection permitted the formation of a new species. Dogs are a product of wild wolves in which several characteristics remain (Von Holdt, 2010). By the evolution and domestication, behaviorally, dogs and wolves are so much different in those relations with other members and humans (Pongrácz, 2018). However, some adaptations have arisen in dogs when the physiology of both species are compared, allowing differences in the expression of genes related to carbohydrate digestion (Axelsson et al., 2013). But, from the morphological point of view, the similarity seems to be preserved. Several dog breeds have the ability to eat large meals, very rapidly, characteristic possible inherited from wild wolves (Bradshaw, 2006). Behavior, physiology and anatomy play an important role on feed behavior: the way dogs eat, how they digest different types of food, and the anatomic capacity of the digestive tract and how it signs to start and finish a meal must be preserved in both species. After domestication, and more precisely in the last decades, we have consistently altered the way to feed dogs. The large meals, with large intervals between meals (Bradshaw, 2006), typical of wild canids were exchanged for small and multiple meals. In addition, the nutritional characteristics of commercial foods differ in several respects from what the ancestor of dogs consumed in terms of nutritional profile and it may represent physiological and metabolic challenges (Bosh et al., 2015). Also, wild wolves use to eat diets with high amount of water compared to the domestic dogs eating processing food.

We must consider that domestic dog is distant from wild wolves with several adaptations to modern life shared with humans. But, food management remains little known in domestic dog and the ingestive behavior needs to be better studied. The present study evaluated how adult dogs respond to a raw diet offered in three different feeding programs and their interference on BW, digestibility, feces and urine quality, and the impact on the metabolism of non-esterified fatty acid (**NEFA**), beta hydroxybutyrate (**BHB**), glucose (**GLU**) and triglycerides (**TG**).

MATERIAL AND METHODS

Animal housing and experimental procedures were approved by the ethic committee of the Universidade Federal do Rio Grande do Sul, protocol number 36138.

Experimental design and animals

Twelve adult Beagle dogs, intact, healthy, 6 males, and 6 females, 3 years old were used in this study. The dogs weighing 11.4 ± 1.90 kg, and with a body condition score of 3.4 ± 0.23 out of 5-point scale (Burkholder & Toll, 2000) were distributed in a balanced incomplete Latin square design, consisting of three treatments and two periods, four dogs per treatment in each period, and thus, eight replications per treatment. Each period included 10 days on adaptation phase in which all dogs received the diet based on raw poultry ground, divided by treatment, to meet MER, kcal/day = $120 \times [BW, \text{kg}]^{0.75}$ plus 7 days for digestibility, and 3 days for blood sampling. Before adaptation phase dogs were maintained during the day playing in the yard and at night in a controlled room, with a temperature of $24^\circ\text{C} \pm 2$. After adaptation phase, dogs were individually allocated in metabolic cages ($0.80 \times 0.70 \times 0.90$ m) equipped with feeders and drinkers. Indoor temperature was maintained between 21 and 24°C throughout the experiment and drinking water was provided *ad libitum*. The amounts of food supplied

were initially calculated based on the ME content, estimated from the chemical composition of the diet, to meet the energy requirement recommended by NRC (2006) for dogs in maintenance. All dogs were previously vaccinated and evaluated with complete blood count and biochemical profile, parasitological test and clinical exams to ensure they were healthy.

Diets and feeding

Diet was based on raw chicken formulated to meet the FEDIAF (2018). It contained in a DM basis: 49% CP, 36% ether extract (EE), 7% ash, and 2.168 kcal/kg ME (Table 1). The moisture of the diets was 87%. The diets were prepared with raw chicken, which was stored at - 20°C, then ground and mixed with the other ingredients to correct calcium, minerals, and vitamins. All experimental diets were prepared using the same ingredients. Therefore, dogs were fed either a diet based on raw chicken adjusted to be complete food, offered for 56 days (14 days adaptation, 7days digestibility, 14 days adaptation, 7days digestibility, 14 days).

The treatments were different feeding programs: 50/50%, dogs fed the maintenance energy requirement (MER, kcal/day = 120 [BW, kg]^{0.75}) divided into two meals a day with a 12-hour interval (50% of MER in each meal); 100%, dogs fed MER once daily (24-hour interval); 200%, feeding only one meal with MER for two days (48-hour interval).

Salmonella sampling

A representative sample of the diets, during the experimental period was collected on the seventh day of the trial and placed in sterile plastic bags, then subsequently sent to the lab for *Salmonella* spp. presence in 25 g of sample, through requiring pre-enrichment, selective enrichment, indicative plating and bio/serotyping

methods. The first stage of detection was non-selective enrichment. Detection of the presence of *Salmonella* for raw meat pursuant to Commission Regulation (EC) No 2073/2005 (microbiological criteria for foodstuff) as amended, is carried out according to the ISO 6579 standard - Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for detection of *Salmonella* spp. (ISO, 2002). Horizontal method for detection of *Salmonella* spp. included four stages of the detection process: pre-enrichment in non-selective liquid medium, selective enrichment in liquid media, plating on selective media, serological and biochemical identification of suspected colonies.

Digestibility

Digestibility was performed after 10 days of adaptation to the feeding program and took 7 days for feces and urine collection. To delimit faecal collection periods, at the beginning and at the end of each faecal collection period 1,000 mg gelatin capsules containing colour marker (iron oxide III; Fe₂O₃) were associated with the first meal. The faeces were scored and weighted at the time of collection by the same person and stored at -20 °C. The score was determined according to the following scale: 1 = hard dry and crumbly, "bullet like"; 2 = well formed, does not leave a mark when picked up, kickable; 3 = moist beginning to lose form, leaving a definite mark when picked up; 4 = the majority, if not all the form is lost, poor consistency, viscous; and 5 = watery diarrhea (Moxham, 2001). Total fecal output for each period was collected, weighed, homogenized, dried at 65 °C in a forced-air oven for 72 h according to AOAC (1995) and ground through a 1-mm screen in a Willey mill. Diet and fecal samples were analyzed according to AOAC (1995) DM (105°C oven for 12 h), ash (method 942.05), ether extract (EE) (after acid-hydrolysis, method 954.02), CP (method 954.01), and

crude fiber (CF) (method 962.10). GE contents of food and feces were determined using a bomb calorimeter (IKA®-Werke Model C2000 basic).

Body weight

The dogs were weighed at the beginning of the experiment, during the entire digestibility assay, 14 days after the beginning digestibility period and 21 days after the beginning digestibility period in each block, totaling 21 days of body weight evaluation.

Quality of urine and water consumption

The volume, pH and density of urine were determined over seven consecutive days, referring to collection days. Total urine collection was performed daily in individual plastic collection bottles containing 0.35 g/L of thymol. In the morning, the volume of urine was measured and 20 mL was collected to measure pH and density. The water consumption was served *ad libitum* and measured daily. A control drinker was used to estimate evaporation losses.

Blood collection

Blood samples were collected sequentially, at time 0 (before the dogs eat the meal), and 12, 24, 36, 48 h after the ingestion of the first meal. Blood samples were obtained by venous puncture of the cephalic vein using vacutainer tubes containing EDTA. Plasma was extracted by centrifugation at 3000 × g for 10 min, transferred to an identified 1.5 ml plastic tube and stored at – 20 °C for subsequent analyzes. The plasma was used to analyze the NEFA, BHB, GLU, and TG. In the 12-hour treatment and 24-hour treatment between meals, plasma were analyzed in 0, 12, 24 and 36 hours, in the 48-hour treatment plasma were analyzed in 0, 12, 24, 36 and 48 hours and to perform the comparative statistical analysis we replicated the 48 hours data as the same as hour 0.

Statistical analysis

All data were analyzed by analysis of variance (ANOVA) using the statistical package Minitab 18 and means was compared by Tukey test ($P < 0.05$). Repeated measures analysis were used to evaluate the effect of NEFA, BHB, GLU and TG. The data were submitted to the normality test. The statistical model used the period (day/night), replication and treatment. The area under the curve (AUC) for all variables were generated to evaluate the effects of treatments, period, and day of collection. The values of $P < 0.05$ were considered significant. The values of fecal scores were analyzed by Kruskal-Wallis non-parametric test ($P < 0.05$).

RESULTS

Dogs ate the total amount of diet offered. Besides that, dogs have been eaten only dry pet food in their intire lives they accepted the raw chicken diet relatively well. In the first contact with food they tended to eat the diets slowly, and after 5 days of adaptation they became normal eaters. No cases of meal refusal, episodes of diarrhea, emesis, or other gastrointestinal clinical signs were observed during the study. The raw meat was maintained at -18°C until offering to the dogs and tested negative for *Salmonella spp.*

Weight loss

Dogs were randomly distributed by body weight in the treatments. During 21 days, the body weight of the dogs was altered ($P < 0.05$). The dogs grouped in a food program with the longest interval between meals (200%) lost more weight (Table 2).

Digestibility

Different feeding programs did not interfere on digestibility of nutrients and energy ($P > 0.05$). Fecal characteristics such as fecal score and total stool production (g/d feces) were not altered ($P > 0.05$) by the different feeding programs (Table 3).

Water consumption and urine characteristics

No change in urinary volume, pH and density was observed in dogs fed any of the different feeding program ($P < 0.05$). In addition, we observed normal color, smell and other characteristics all throughout of the experimental period.

On the other hand, water consumption was greater ($P < 0.05$) in dogs fed 200% (Table 4).

Biochemistry

The biochemical tests throughout the experimental period remained within the reference values for health adult dogs: NEFA (0.13 to 1.25 mmol/L), GLU (60 to 120 mg/dL), BHB (0 to 0.10 mmol/L), and TG (15 to 380 mg/dL) according to Kaneko et al. (1997).

The different feeding programs affected the area under the curve of NEFA ($P < 0.05$). The group with a longer interval between meals (200%) showed the greatest concentrations ($P < 0.0001$). No differences on levels of BHB were observed. Comparisons of TG showed that the group with a longer interval between meals (200%) had lowest values. Also, there was an interaction effect, only indicating differences on the second day of collection ($P < 0.0001$).

The analysis of blood GLU showed difference between treatments, with lowest average for dogs fed 200%, followed by the 100% program, and the greatest average ($P = 0.0170$) in the program 50/50% (Table 4). There was interaction effect between

treatment and day, on the second day we observed the difference ($P < 0.0001$) between feeding programs (Table 5).

DISCUSSION

Dogs as their wolve ancestors preserved all skills to eat large meals. The anatomy of stomach and its capacity permits both species eat a great amount of food in only one meal. For wolves it is comprehensible that they must eat a biggest meal as they can, once the next meal is not probable. Thousand years passed until to establish the domestic dogs and they can eat, at least, the double of their daily energy of raw meat in only one meal. In this study, the dogs used were born and raised in the lab, eating only extruded diets and they needed only 5 days of adaptation to eat a large meal of raw meat. The capacity of ingestion and several other mechanisms are preserved in dogs. It may support the idea that several characteristics from wild wolf remains alive in domestic dogs. Obviously, domestic dogs are not wolves, there is a lot about artificial and natural selection involved in this process. But, in the last century we changed the way to feed them including: diets composition, the amount of water included in the diets, the processing, and several other characteristics which may have some impact in the dog's health. In this study we try to isolate only one of these factors that has been changed in the dog's feeding. The hypothesis is related to the way that we are feeding dogs and the capacity of dog digest and metabolize the nutrients and energy, which in somehow must bring out some information regarding weight loss.

Diets were formulated to attend dog nutritional requirements (FEDIAF, 2018) based on raw ingredients to simulate the volume of a natural diet, with high content of water. During adaptation they ate diets slowly and it was improving over the trial when they took less than 20 min to eat the entire meal, even in dogs fed 200%. The pacific

behavior of dogs during the meals was replaced with diet and they became more possessive.

Digestibility

Different feeding program may affect the digestibility (Konturek et al., 2004). A large amount of food in the same meal may interfere in the intestinal rate of passage and consecutively in the absorption and metabolism. By dividing the total amount of ME in different feeding programs we evaluated the starving effect between meals: 12h, 24h, 36h and 48h. First, we look at the digestibility of energy and nutrients using the same raw chicken based diet. Any change in the absorption would influence in the body weight and metabolism.

But, contradicting our hypothesis, different feeding programs did not interfere on nutrients and energy digestibility (Table 2). Independent of the size of the meal dogs had not exceed their absorptive capacity. The use of a raw diet in our study allowed us to simulate the volume and dietary concentration of protein and fat that a wild carnivore would normally consume. Protein and fat play a key role in the digestion of food still in the stomach. Higher concentrations and amounts of protein and fat stimulates enteroendocrine cells I, present in the duodenum, to secrete CCK into the bloodstream. This secretion stimulates contractions of the gallbladder and inhibits exocrine pancreatic secretion, promote the narrowing of the pyloric sphincter, reducing the passage rate through the gastrointestinal tract, delaying gastric emptying and increasing transit time along the gastrointestinal tract (Berg et al., 2002). In addition, secretin is released by the products of fat and protein digestion, which slows gastric emptying and depresses the colon's motility. In fact, the effect of such a process may explain partially the similar digestibility between different feeding programs, whose absent control could exceed the

digestive and absorptive capacity of the animal, resulting in higher faecal losses and the consequent reduction of digestibility (Miller et al., 1981; Konturek et al., 2004; Forbes, 2007).

Still do not have a scientific consensus about how to feed dogs. We are not aware of any study using similar methodology to investigate the impact of feeding different intervals of raw diet meals. Raw diets preserve the volume of the food ingested by wild carnides which may have some impact in the digestibility and metabolism. Domestic dogs are fed with short interval between meals, normally extruded dry food, with a small volume. Actually, this study was not designed to prove differences between raw and extruded dry food, but we used raw food to mimetize the volume of the diet ate by their ancestors in order to check the effects in the metabolism of domestic dogs. The diets showed a great DM digestibility with great absorption of fat and protein. Fiber was not present in the diet and the mineral content was low. Dogs used to defecate every other day, faeces were well formed and dry containing almost 50% of DM.

Water consumption and urine characteristics

It was expected that water intake would be influenced by different feeding programs. According to a study by Soares et al. (2007), water consumption is positively influenced by the consumption of DM. The raw chicken diet contained 87% moisture which provided part of the daily water consumption and reduced the voluntary fresh water intake, but dogs fed 200% MER consumed significantly more water than the others, probably as a way of distraction because they did not receive food at the same time as others or the fact that on days when the dogs did not consume food, that was composed for 87% for moisture, needed to drink more water.

Given the concern of the tutors of dogs with the quality of the feeds that meet the nutritional requirements, we performed tests to verify the volume, pH and density of urine. The urinary density is considered one of the most practical and sensitive methods, being an early indicator of renal impairment, since its alterations may occur before those observed in serum biochemistry (Brown, 2003).

Urinary volume, pH and density were not affected by the feeding program. According to França et al. (2011), the amount and origin of the protein influence the urinary pH, that is, when there is a greater elimination of nitrogen, this will result in acid urinary pH. The values of pH and density are within the physiological range for the species studied, with a normal value between 5.0 and 7.5 and 1015 - 1045 g/mL, respectively (Kerr 2003; Kaneko et al., 1997). Therefore, a diet based on raw chicken meat and with different food programs not interfere in the health and well-being of the animals.

Body weight

During the fasting period, glycogen degradation, muscle proteolysis and lipolysis are responsible for maintaining the energy supply in the body (Crook et al., 2001). When fed again, the dogs passed to an anabolic phase, with a reconstitution of the body reserves. However, with 48 hours of interval between meals, the period of catabolism was longer, resulting in greater weight loss than other feeding programs. The body burns fat not to lose weight but because it needs to burn to perform its basic metabolic functions. With low glucose levels the body will need immediately this energy, stored in the form of TG, initiating the process of burning fat and losing weight.

Metabolism

The natural diet of dog's ancestors was described as been high in protein, moderate in fat, and minimal amounts of carbohydrates (54:45:1 % by energy) (Bosch et al., 2015). Domestic dogs were adapted a more humanized food along the years of domestication, but still have much in common. They have a short, simple, acidic digestive tract to allow animal proteins and fats to be quickly and easily digested, sharp teeth and vertical motion jaws, designed to tear meat (Pongrácz, 2018). However, some adaptive changes have appeared in dogs, allowing differences in the expression of genes related to carbohydrate digestion, whose enzymes are more expressed and have higher activity than in wolves (Axelsson et al., 2013). Therefore, your need to understand how the metabolism of dogs acts on an ancestral diet, made us perform this experiment.

The liver helps to limit the amount of glucose in the blood, storing it as glycogen. On the second fasting day of the 200% food program, GLU level decreased significantly, certainly due to decreased insulin secretion and increased glucagon secretion, since glucagon is secreted in response to low blood sugar in the state of fasting, mobilizing the glycogen reserves (Berg et al., 2002). The only other potential source of glucose is amino acids derived from protein breakdown. However, the proteins are not stored, and therefore, any breakage will require a loss of organism function. Thus, the second priority of starvation metabolism is preserving the protein, which is achieved by shifting the spent fuel from glucose to fatty acids and ketone bodies. That way, both muscle and liver use fatty acids as fuel when the blood glucose level is low.

Metabolically, the longer intervals between meals may lead to higher concentration of plasma NEFA and lower TG. NEFA are the main fuel during long intervals between meals (Arner, 2001). Under the condition of fasting, the

glucagon/insulin ratio's influence occurs by promoting the hydrolysis of triglycerides releasing NEFA, explaining our results. Fasting is characterized by low glucose concentrations, and accordingly, low levels of insulin and high glucagon. NEFA release in response to fasting promotes maintenance of whole-body energy homeostasis in the absence of external energy supply. The rapid increase in serum NEFA levels during fasting may reflect the mobilization of NEFA from adipose tissue; this process is mediated by the decrease in insulin with its lipolytic effects (Bailhache et al., 2003).

Even with an interval between meals of 48 hours, ketone bodies did not become the main fuel for the body of animals fed with raw meat, that is, there was no effective conversion of fatty acids to ketone bodies by the liver in this study.

Implications

In dogs, obesity remains a problem. Most of the time excessive energy intake is the cause of weight gain. Since the domestication of the canine species the feeding of dogs has been altered, where we exchange foods with high water content (animal tissues with more than 70% water in the composition) by dry, extruded diets (with a maximum of 10% water in the composition) without determining the influence of these diets on the health and well-being of the animals once the frequency and the volume of the food were changed. However, our study showed that the consumption of raw meat and with larger intervals between meals did not alter consumption, digestibility, fecal quality and urinary characteristics, but there was a higher level of NEFA, identifying this as the source of fuel for the animals. Therefore, the higher circulating levels in the program with longer intervals between meals may explain physiologically how animals acting on programs with large intervals between meals and their impact on lipid turnover act.

LITERATURE CITED

- Arner, P. 2001. Free fatty acids--do they play a central role in type 2 diabetes? *Diabetes Obes Metab.*, 3:11–19.
- Axelsson, E., Ratnakumar, A., Arendt, J., Maqbool, K., Webster, M. T., Perloski, M., Liberg, O., Arnemo, J. M., Hedhammar, A., Lindblad-Toh, K. 2013. The genomic signature of dog domestication reveals adaptation to a starch-rich diet. *Nature*. 495:360–365.
- Bailhache E, Nguyen P, Krempf M, Siliart B, Magot T, Ouguerram K. 2003. Lipoproteins abnormalities in obese insulin-resistant dogs. *Metabolism* 52:559–564
- Bosh, G., Esther, A., Plantinga, H., Hendriks, W. H. 2015. Dietary nutrient profiles of wild wolves: insights for optimal dog nutrition? *Br. J. Nutr.*, 113:40–54.
- Bradshaw, J. W., 2006. The evolutionary basis for the feeding behavior of domestic dogs (*Canis familiaris*) and cats (*Felis catus*). *J. Nutr.*, 136:1927–1931.
- Burkholder W. J., Toll, P. W. 2000. Small animal clinical nutrition. *Obesity*., Topeka, KS: Mark Morris Institute.
- Crook, M. A., Hally, V., Panteli, J. V. 2001. The importance of the refeeding syndrome. *Nutrition*. 17:632-637.
- NRC. 2006. Nutrient requirements of dogs and cats. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Forbes, J. M., 2007. Voluntary food intake and diet selection in farm animals. 2th edition.
- França, J., Saad, F. M. O. B., SAAD, C. E. P. 2011. Avaliação de ingredientes convencionais e alternativos em rações de cães e gatos. *Rev. Bras. Zootec.* 40:222–231.
- Brown, S. A. 2003. Clinical assessment of renal function: new methods, old ideas. In: Proceedings of the 28th World Small Animal Veterinary Association Congress.
- Kaneko, J. J., J. W. Harvey, and M. L. Bruss. 1997. Clinical biochemistry of domestic animals. 5th ed. Acad. Press, New York, NY.
- Kerr, M. G. 2003. Exames laboratoriais em medicina veterinária – bioquímica clínica e hematologia. 2th edition.
- Konturek, S. J., Konturek, J. W., Pawlik, T., Brzozowski, T. Braingut axis and its role in the control of food intake. 2004. *J. Physiol. Pharmacol.* 55:137-154.
- National Research Council. 2006. Nutrient requirements of dogs and cats. National Academies Press, Washington, DC.
- Soares, L. F., Ribeiro, A. M. L., Penz, A. M., Ghiotti A. 2007. Influência da restrição de água e ração durante a fase pré-inicial no desempenho de frangos de corte até os 42 dias de idade. . *Rev. Bras. Zootec.* 36:1579–1589.
- Wayne, R. K. 1993. Molecular evolution of the dog Family. *Trends in genetic*. 9:218-224.

Table 1 – Basal diet ingredients and analysis

Ingredients, as is	Amount, g/kg
Raw carcass of chicken (without neck, head and feet)	959
Limestone	15.3
Premix mineral and vitamin*	9.80
Dicalcium fosfate	8.70
Potassium chloride	3.70
Choline chloride	2.00
Salt	1.20
Total	1000
Analyzed composition, DM basis	
Crude protein	490
Ether extract	360
Ash	67.6
EB, kcal/kg	6,048

*The mineral-vitamin premix added assured per kg of dry diet: vitamin A, 10,600 IU; vitamin B1, 3.02 mg; vitamin B12, 0.05 mg; riboflavin, 0.65 mg; pyridoxine, 3.02 mg; vitamin D3, 907 IU; vitamin E, 75.6 IU; vitamin K3, 1.51 mg; niacin, 45.4 mg; folic acid, 0.30 mg; pantothenic acid, 15.1 mg; biotin, 0.04 mg; cobalt, 15.1 mg; copper, 10.6 mg; iron, 121 mg; iodine, 2.27 mg; manganese, 7.46 mg; selenium, 0.30 mg; zinc, 151 mg; butylated hydroxytoluene, 227 mg.

Table 4 – Body weight of dogs under different feeding programs for 42 days

Item	Treatments ¹			SEM ²	P-value
	50/50%	100%	200%		
BW, kg					
Inicial	14.1	13.6	13.5	0.21	0.6110
Final	13.2	13.0	11.8	0.34	0.7620
WL ²	0.90 ^b	0.60 ^b	1.70 ^a	0.11	0.0316

¹50 50% = 50% of MER in each meal; 100% = feeding once daily (24-hour interval) with all MER; 200% = feeding each two days (48-hour interval) with MER for two days ²SEM, n = 8 dogs per treatment

²WL = Weight loss during the digestibility

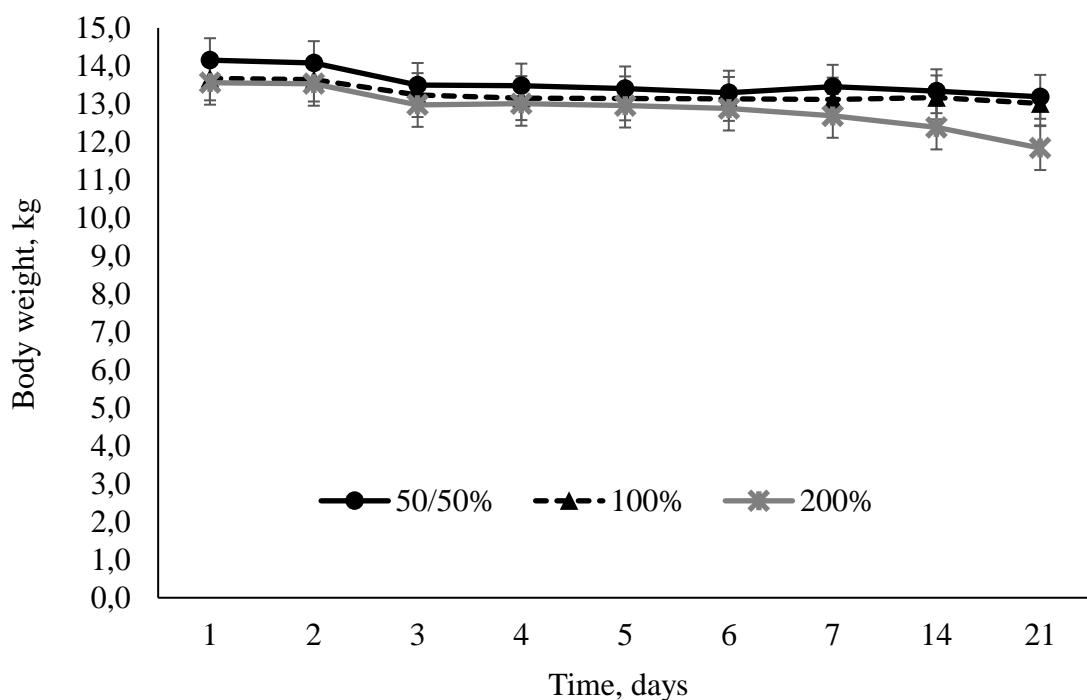


Figure 1 – Body weight (kg) of dogs under different feeding programs for 21 days.

Table 2 – Nutrient intake, digestibility, and fecal characteristics of dogs under different feeding programs

Item	Treatments ¹			SEM ²	P-value
	50/50%	100%	200%		
Daily intake, g/day					
DM	115	118	110	0.97	0.8547
OM	107	109	102	0.73	0.8546
MM	8.5	8.7	8.1	0.73	0.8535
EEHA	45.4	46.4	43.3	3.90	0.8546
CP	61.8	63.2	58.9	7.74	0.8546
Apparent digestibility, %					
DM	88.5	89.4	87.7	1.29	0.7013
OM	91.8	92.4	91.3	0.08	0.6844
Ash	88.6	89.4	87.7	1.29	0.7011
EEHA	96.5	95.9	94.3	0.67	0.0946
CP	93.8	94.5	94.1	0.65	0.7436
DE	93.5	93.9	92.8	0.82	0.6723
ME	84.0	84.3	84.0	0.46	0.3581
Fecal characteristics					
Fecal score ³ , 1 to 5	2.00	2.19	2.23	0.07	0.1210
Fecal DM, %	49.8	49.7	50.1	0.56	0.9703
Faeces, g/d (DM g/d)	25.4	24.4	23.9	0.56	0.7616

^{a,b}Means followed by different letters in the same row differ significantly by Tukey test ($P < 0.05$).

¹50 50% = 50% of MER in each meal; 100% = feeding once daily (24-hour interval) with all MER; 200% = feeding each two days (48-hour interval) with MER for two days ²SEM, n = 8 dogs per treatment

³Fecal score; 1 = hard: dry pellet; 2 = hard, formed, and dry stool: remains firm and smooth, 3 = soft, formed, and moist: softer stool that retains shape; 4 = soft: formless stool assumes shape of container and 5 = watery: liquid that can be poured not significant by the Kruskal–Wallis test.

Table 3 – Urinary characteristics and water consumption of dogs under different feeding programs

Item	Treatments ¹				
	50/50%	100%	200%	SEM ²	P-value
Urinary characteristics					
Total volume, mL/d	202	242	228	8.49	0.1230
Urinary pH	7.16	7.01	7.36	0.05	0.0640
Urinary density	1043	1042	1041	0.69	0.7000
Water consumption, mL/d ²	143 ^b	162 ^b	212 ^a	7.94	<0.0001

¹50/50% = 50% of MER in each meal; 100% = feeding once daily (24-hour interval) with all MER; 200% = feeding each two days (48-hour interval) with MER for two days

²SEM, n = 8 dogs per treatment

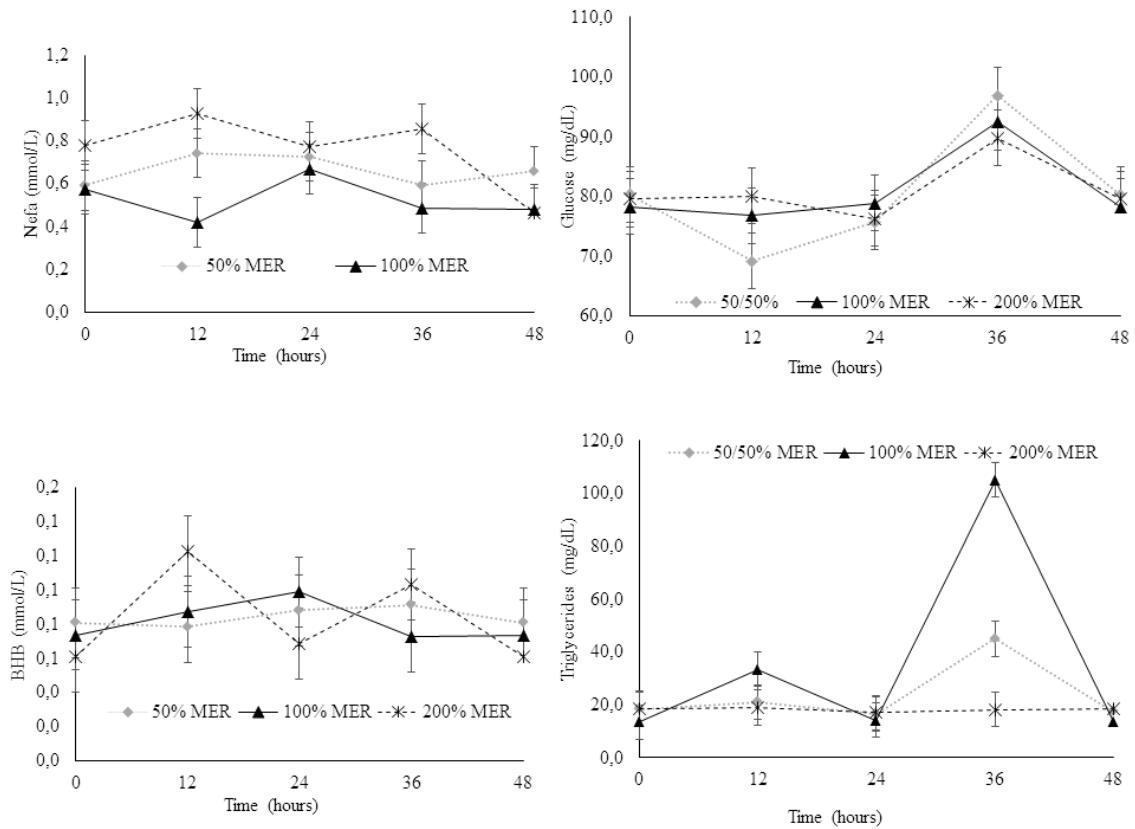


Figure 2 – Non esterified fatty acids, glucose, beta-hydroxybutyrate, and tryglicerides in plasma of dogs under different feeding programs during 48 h.

Table 5 – Mean area under curve on metabolism characteristics of dogs under different feeding programs

	NEFA (mmol/L)	BHB (mmol/L)	Glucose (mg/dL)	Triglycerides (mg/dL)
Treatments¹				
50/50%	8.24 ^a	0.95	994 ^a	322 ^b
100%	5.98 ^b	1.08	953 ^{ab}	506 ^a
200%	9.71 ^a	0.95	870 ^b	198 ^c
Period²				
Day	8.16	1.05	935	346
Night	7.80	1.11	943	338
Day³				
1	8.23	1.10	927	257 ^b
2	7.72	1.06	950	427 ^a
<i>P</i> Value				
Treatments	<0.0001	0.2490	0.0170	<0.0001
Period	0.5150	0.5950	0.7850	0.8060
Day	0.3600	0.7060	0.4590	<0.0001
Treatment*Day	0.4920	0.4990	<0.0001	<0.0001
SEM⁴	0.70	0.97	0.68	0.76

¹50/50% = 50% of MER in each meal; 100% = feeding once daily (24-hour interval) with all MER; 200% = feeding each two days (48-hour interval) with MER for two days ²Day, hour 0 to 12 and 24 to 36; Night, hour 12 to 24 and 36 to 48; ³Day, repeat day and night ⁴SEM, n = 8 dogs per treatment

CAPÍTULO IV

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O consumo alimentar adequado na espécie suína representa resultados produtivos e economicamente eficientes das granjas, em que a alimentação representa a principal fração do valor investido na produção do suíno terminado. De maneira geral, em suínos, os fatores diferentes programas de alimentação, idade e ritmo circadiano (dia e noite) estudados demonstraram influenciar no comportamento ingestivo destes animais, e que o tipo de correlação prandial pode ser uma medida do controle comportamental que os suínos tem sobre seus padrões de alimentação, onde futuramente pode-se utilizar este estudo para definir quantos animais por comedouro seria o ideal ou até mesmo ações para otimizar o consumo de alimento na exigente e competitiva suinocultura moderna. Coletar informações soa como algo simples e, talvez por isso, não receba a atenção devida. O termo “precisão” geralmente é associado à alta tecnologia e custos em investimentos, no entanto, está muito mais relacionado a mudanças no comportamento alimentar e a forma como os dados são analisados, com objetivos de controlar a variabilidade dos processos, do que com o alto investimento em si.

Os cães, em que o propósito é a longevidade procura-se fornecer alimentos de alta qualidade. Porém, apesar de serem capazes de ingerir a quantidade necessária para satisfazer sua demanda diária de energia, quando ofertado um alimento altamente palatável, a capacidade de regulação é afetada, tornando a obesidade uma das principais doenças da atualidade. Nossa estudo demonstrou que diferentes programas alimentares alteram as características metabólicas em cães, sendo mostrado um aumento de ácido graxo não esterificado no programa onde os cães foram alimentados a cada 48 horas e uma maior perda de peso nos animais deste grupo, sem alterar a digestibilidade dos nutrientes analisados, demonstrando, assim, que diferentes programas alimentares com alimento a base de uma dieta em que o ancestral consumia era favorável para que estes não obtivessem problemas de sobrepeso ou obesidade. Este estudo foi realizado com intuito de mimetizar a dieta de um canídeo selvagem, portanto, deve-se ficar claro de que em nosso estudo não estamos incentivando o fornecimento de carne crua, pelo fato de poder aumentar o risco de contaminação, por bactérias, com destaque para a salmonelose, toxoplasmose e as verminoses tanto dos próprios animais quanto das pessoas que convivem com eles no ambiente doméstico. Além disso, alguns cães que se alimentam com maiores intervalos entre refeições podem gerar consequências deletérias, como dilatação e torção gástrica em animais de grande porte. Também podem ocorrer gastrites por refluxo de bile, decorrentes de períodos de jejum prolongado. Dessa forma, não estamos indicando que se faça fracionamento entre refeições de 48 horas para cães saudáveis.

Os nutrientes presentes na dieta, como altas quantidades de proteínas, podem interferir na saciedade e alterar o consumo de alimentos, modificando os teores plasmáticos de hormônios liberados no trato gastrintestinal e que influenciam os mecanismos centrais envolvidos na regulação do balanço energético, através de caminhos neuronais tais como grelina e GLP-1, além de modular as respostas glicêmicas e insulínicas pós-prandiais dos animais. Com isso, em nosso estudo pretendia-se colaborar para uma melhor compreensão da

fisiologia e controle hormonal do comportamento alimentar de cães através da avaliação das concentrações séricas de PYY, grelina e GLP-. As coletas ocorreram no tempo 0 (em jejum) e após 12, 24, 36 horas de exposição às dietas. Em cada tempo, alíquotas de sangue (3mL) foram coletados da veia cefálica e imediatamente colocadas em tubos sem anticoagulante para dosagem de Grelina, GLP-1 e PYY. Cada amostra foi então centrifugada e o plasma congelados em tubos tipo eppendorf, mantidos em freezer a -20°C para posterior análise. Os hormônios foram dosados através do kit Milliplex gut hormone, Merck Millipore®. Alguns hormônios não formaram curva de calibração, portanto, algum padrão pode estar com problema, desde transporte e armazenamento do Kit, até armazenamento de amostras.

Segundo Switonski (2013), embora a maioria das doenças genéticas caninas tenham os seus homólogos em humanos e, portanto, os cães são considerados como um modelo animal importante na medicina humana, os estudos genéticos sobre os homólogos caninos das principais doenças complexas dos seres humanos, como a obesidade, ainda são incipientes. Segundo Spurlock & Gabler (2008) e Litten-Brown et al. (2010), os suínos são amplamente utilizados como modelos para várias doenças humanas, incluindo a obesidade e a síndrome metabólica. Por esses motivos foram escolhidos o cão e o suíno para essa pesquisa comparativa. Em ambas espécies, tiveram diferentes fatores que interferiram no comportamento alimentar, demonstrando que o tema é complexo e é necessário dar continuidade aos estudos de fatores que possam estar influenciando no comportamento alimentar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVAREZ, R. A. *et al.* Docosapentaenoic acid is converted to Docosahexaenoic acid in the retinas of normal and prcd-affected miniature poodle dogs. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, St. Louis, v. 35, p. 402-408, 1994.
- ANDRETTA, I. *et al.* The impact of feeding growing-finishing pigs with daily tailored diets using precision feeding techniques on animal performance, nutrient utilization, and body and carcass composition. **Journal of Animal Science**, Oxford, v. 92, n. 9, p. 3925-3936, 2014.
- ANDRETTA, I. *et al.* Precision feeding can significantly reduce lysine intake and nitrogen excretion without compromising the performance of growing pigs. **Animal**, Cambridge, v.10, n. 7, v. 1137-1147, 2016.
- BOSCH, G. *et al.* Dietary nutrient profiles of wild wolves: insights for optimal dog nutrition? **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 113, n. 1, p. 40–54, 2015.
- BOYKO A. R. *et al.* Complex population structure in African village dogs and its implications for inferring dog domestication history. **Proceedings of the National Academy Science of the United States of America**, Washington, v. 106, n. 33, p. 13903–13908, 2009.
- BOKKERS, A. M.; KOENE, P. Eating behaviour, and preprandial and postprandial correlations in male broiler and layer chickens. **British Poultry Science**, Cambridge, v. 44, n. 4, p. 538-544, 2003.
- CEGLA, J.; TAN, T. M.; BLOOM, S. R. Gut-brain cross-talk in appetite regulation. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, London, v. 13, n. 5, p. 588-593, 2010.
- CHAPINAL, N. A. *et al.* Feeder use patterns in group-housed pregnant sows fed with an unprotected electronic sow. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, Oxford, v. 11, n. 4, p. 319-336, 2008.
- COHN, C.; JOSEPH, D.; ALLWEISS, M. D. Nutritional effects of feeding frequency. **American Journal Clinical Nutrition**, Oxford, v. 11, n. 5, p. 356–361, 1962.
- CASTRO, J. M. The stomachenergycontent governs meal patterning in the rat. **Physioly Behavior**, Amsterdam, v. 26, n. 5, p. 795–798, 1981.
- DAMIANI, D. Appetite brain sinalization. **Revista Brasileira de Clinica Médica**, São Paulo, v. 17, n. 2, p. 138-415, 2011.
- FÉLIX, A.; OLIVEIRA, S. G.; MAIORKA, A. Fatores que interferem no consumo

de alimentos em cães e gatos. In: VIEIRA, S. L. **Consumo e preferência alimentar de animais domésticos**, Londrina, v. 287, n. 2, p. 162-199, 2010.

FORBES, J. M.; KYRIAZAKIS, I. Food preferences in farm animals: why don't they always choose wisely? **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 54, n. 2, p. 429–440, 1995.

FORBES, J. M. Growth and fattening. In: FORBES, J. M. **Voluntary food intake and diet selection in farm animals**. 2nd. ed. Wallingford: CABI International, 2007. Chapter 15, p. 310-340.

GRIFFIN, R.W.; SCOTT, G.C.; CANTE, C.J. Food preferences of dogs housed in testing-kennels and in consumers' homes: some comparisons. **Neuroscience Behavior Biology**, Amsterdam, v. 8, n. 2, p. 253-259, 1984.

HALLSCHMID, M. Obese men respond to cognitive but not to catabolic brain insulin signaling. **International Journal Obesity**, London, v. 32, n. 2, p. 275-282, 2008.

HANSEN, B. C.; JEN, K. L. C.; KALNASY, L. W. Control of food-intake and meal patterns in monkeys. **Physiology Behavior**, Amsterdam, v. 27, n. 5, p. 803–810, 1982.

HOY, S.; SCHAMUN, S.; WEIRICH, C. Investigations on feed intake and social behaviour of fattening pigs fed at an electronic feeding station. **Applied Animal Behavior Science**, Amsterdam, v. 139, n. 1, p. 58-64, 2012.

IAN, T. E. et al. Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY, **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 89, n. 5, p. 1070–1077, 1985.

INGVARTSEN, K. L.; ANDERSEN, J. B. Symposium: dry matter intake of lactating dairy cattle Integration of Metabolism and Intake Regulation: a review focusing on periparturient animals. **Journal of Dairy Science**, Amsterdam, v. 83, n. 7, p. 1573-1597, 2000.

KRALY, F. S.; CUSHIN, B. J.; SMITH, G. P. Nocturnal hyperphagia in the rat is characterized by decreased postprandial satiety. **Journal Comparative Physiological Psychology**, Washington, v. 94, n. 2, p. 375–387, 1980.

MAIOR, A. S. Hormonal regulation of food intake: a brief review. **Revista Medicina**, Ribeirão Preto, v. 45, n. 3, p. 303-309, 2012.

MASELYNE, J.; SAEYSA, W.; VAN NUFFEL, A. Review: quantifying animal feeding behaviour with a focus on pigs. **Physiology & Behavior**, Amsterdam, v. 138, n. 2, p. 37–53, 2015.

MONTGOMERY, G. W.; FLUX, D. S.; CARR, J. R. Feeding patterns in pigs: effects of amino-acid deficiency. **Physiology Behavior**, Amsterdam, v. 20, n. 6, p. 693–698, 1978.

NIELSEN, B. L.; LAWRENCE, A. B.; WHITTEMORE, C. T. Effect of individual housing on the feeding behaviour of previously group housed growing pigs. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 47, n. 3, p. 149–161, 1996.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dogs**. Washington: National Academy Press., 2006. 428 p.

PEKAS, J. C. A method for direct gastric feeding and the effect on voluntary ingestion in young swine. **Appetite**, Amsterdam, v. 4, n. 1, p. 23-30, 1983.

QUEIROZ, M. L. V. et al. Percepção dos consumidores sobre o bem-estar dos animais de produção em Fortaleza, Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, Campinas, v. 45, n. 2, p. 379-386, 2014.

RENAUDEAU, D. et al. Effect of breed (lean or fat pigs) and sex on performance and feeding behaviour of group housed growing pigs in a tropical climate. **Asian-Australian Journal Animal Science**, Korea, v. 9, n. 4, p. 593-600, 2006.

SAAD, F. M. O. B.; SAAD, C. E. P. **História evolutiva na alimentação e controle de consumo dos cães e gatos**. 44 f. 2004. Monografia (Especialização em Nutrição e Alimentação de Cães e Gato). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

SIMPSON, K. A.; MARTIN, N. M.; BLOOM, S. R. Hypothalamic regulation of food intake and clinical therapeutic applications. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabólica**, São Paulo, v. 53, n. 2, p. 120-128, 2009.

SPEAKMAN, J. R.; STUBBS, R. J.; MERCER, J. G. Does body mass play a role in the regulation of food intake? **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 61, n. 4, p. 473-487, 2002.

SUZUKI, K. et al. The role of gut hormones and the hypothalamus in appetite regulation. **Endocrine Journal**, Tokio, v. 57, n. 5, p. 359-372, 2010.

TOLKAMP, B. et al. Prandial correlations and the structure of feeding behavior. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 137, n. 1, p. 53-65, 2012.

ZORRILLA, E. P. et al. Measuring meals: structure of prandial food and water intake of rats. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative Comparative Physiology**, Rockville, v. 288, n. 6, p. 1450–1467, 2005.

APÊNDICES

Apêndice A – Carta de aprovação do Comitê de ética no uso de animais



U F R G S
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
Comissão De Ética No Uso De Animais



CARTA DE APROVAÇÃO

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 38138

Título: COMPORTAMENTO INGESTIVO E DE SACIEDADE EM SUÍNOS E CÃES

Vigência: 01/01/2019 à 01/01/2022

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

LUCIANO TREVIZAN - coordenador desde 01/01/2019

PEDRO HENRIQUE SESSEGOLO FERZOLA - Outra Função desde 01/01/2019

Bruna Cristina Kuhn Gomes - Aluno de Doutorado desde 01/01/2019

Caroline Friedrich Dourado Pinto - Aluno de Mestrado desde 01/01/2019

Aline Kummer de Souza - Aluno de Mestrado desde 01/01/2019

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo , em reunião realizada em 14/01/2019 - Sala 330 do anexo I do prédio da Reitoria, Campus Centro. , em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de provenientes de 12 cães da raça Beagle, seis machos e seis fêmeas com 10 a 14 Kg e idade entre 4 e 5 anos, provenientes do canil experimental da Faculdade de Agronomia da UFRGS, de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.

Porto Alegre, Sexta-Feira, 8 de Fevereiro de 2019

ALEXANDRE TAVARES DUARTE DE OLIVEIRA
Vice Coordenador da comissão de ética

Apêndice B – Normas para redigir o capítulo II – Publicação no periódico Animal Cambridge

animal

An International Journal of Animal
Bioscience

Instructions for authors

Last updated June 2018

Introduction

animal – an International Journal of Animal Bioscience is a peer-reviewed journal, published monthly in English, in both print and online formats (12 issues making a volume). Special issues or supplements may also be produced upon agreement with the Editorial Board. There are no page charges, except for reproduction of illustrations printed in colour and for the Open Access option that requires payment of an Article Processing charge.

The scope of the journal, the expected standards of published articles, the article types published by *animal*, the ethics policy, the evaluation procedures and peer-review criteria, the handling of misconducts as well as procedures for complaints and appeals are presented in the Publication policies available at <https://www.cambridge.org/core/journals/animal/information/instructions-contributors>.

Submitted manuscripts should not have been published previously, except in a limited form (e.g. abstract or short communication to a symposium or part of MSc or PhD theses) and should not be under consideration for publication by another journal. Book reviews are not accepted.

General specifications for different types of article

Table 1 Specifications for the articles published in *animal*

Article type	Maximum length (all text except figures)	Maximum number of tables plus figures	Maximum number of references	Additional information
Original research	7 000 words (= 9 journal pages)	8	35	
Short communications	3 000 words	3	10	
Reviews	9 500 words (= 12 journal pages)	10	50	
Opinion papers	1700 words (= 2 journal pages)	1	5	

or 1 200 if a figure is submitted All article types	5 references per 1000 words	Supplementary material can be proposed and will be made available
---	-----------------------------------	---

Recommendations for preparation of papers

The responsibility for the preparation of a paper in a form suitable for publication lies with the author. Authors should consult recent articles of *animal*, available at <https://www.cambridge.org/core/journals/animal>, to make themselves familiar with the layout and style of *animal*. A **style sheet** summarising these indications is available on our website at <https://www.cambridge.org/core/journals/animal/information/instructions-contributors>.

Before submitting your manuscript, you should consult the pre-submission checklist at (<https://www.cambridge.org/core/journals/animal/information/instructions-contributors>). Manuscripts that do not comply with the specifications described in Table 1 or with the directions detailed below will not be accepted for peer-review. Compliance with instructions will ensure that manuscripts are peer reviewed exclusively on academic merit. Any deviations from these instructions will be at the discretion of the Editor-in-Chief.

All co-authors must agree with the content of the manuscript. Authors must have obtained permission to use copyrighted material in the manuscript prior to submission. Work described in the manuscript must comply with ethical guidelines available on the website <https://www.cambridge.org/core/journals/animal/information/instructions-contributors> and be reported according to "The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research" detailed in Kilkenny et al. (2010)¹ and summarised at www.nc3rs.org.uk.

Scientific writing

A good quality of scientific writing is required. The research must be understandable by a general scientific readership and by specialists. The research problem is identified, existing knowledge relevant to the problem is analysed, the hypothesis is clear. The reporting is complete. The central message is identified. Arguments and evidence are presented in a clear, logical and balanced way from the most general to the specific points. Discussion connects all results obtained in an organised and proper way with a clear interpretation. Sentences are simple, short and direct, the style is concise and precise.

English

A good quality of written English is required. Spelling may be in British or American English, but must be consistent throughout the paper. Care should be exercised in the use of agricultural terminology that is ill-defined or of local familiarity. If the English is not good enough, the manuscript will be sent back to the authors with a recommendation that authors have their manuscripts checked by an English language native speaker before re-submission. Cambridge University Press lists a number of third-party services specialising in language editing and / or translation at: <https://www.cambridge.org/core/services/authors/language-services> and suggests that authors contact them as appropriate. Use of any of these services is

at the author's own expense. The copy-editor will not perform language editing.

Manuscript layout

Manuscripts should be prepared using a standard word processing programme such as Microsoft Word, and presented in a clear, readable format with easily identified sections and headings. A style sheet is available on our website at <https://www.cambridge.org/core/journals/animal/information/instructions-contributors>.

Manuscript layout directions

- Typed with double-line spacing with wide margins (2.5 cm)
- Lines must be continuously numbered; the pages must also be numbered
- Arial 12 should be used for the text, and Arial 11 for tables and references
- Sections should typically be assembled in the following order: Title, Authors,
- Authors' affiliations including department and post/zip codes, Corresponding author, Short title, Abstract, Keywords, Implications, Introduction, Material and methods, Results, Discussion, Acknowledgements, Declaration of interest, Ethics committee, Software and data repository resources, References, Tables, List of figure captions, Use of small paragraphs with less than 6 to 8 lines must be avoided
- Footnotes in the main text are to be avoided
- The manuscript complies with the section specific requirements set out below

Full title

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

- (a) attract 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;
- (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) not include Latin names, if there is a common name, or abbreviations.

Full title directions

- No more than 170 characters including spaces
- Include "Review:", "Invited review:" or "Animal board invited review:" before the full title if required (see Table 1)
- Title of an invited opinion paper should start with "Opinion paper:"
- Title of a short communication should start with "Short communication:"

Authors and affiliations

Information, such as author names and affiliations, may be automatically extracted at the time of submission. To take advantage of the extraction process, you must 1) use a superscript number after each author name and, 2) begin each full affiliation with the corresponding superscript number as follows: Example

J. Smith^{1,a}, P.E. Jones², J.M. Garcia^{1,3} and P.K. Martin Jr⁴ [initials only for first names]

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

⁴Dairy Science Department, North Carolina State University, Raleigh, NC 27695-7621, USA

^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 who submits and manages the manuscript during the submission/review process must be registered on Editorial Manager. He or she can be different from the corresponding author indicated in the manuscript who will be the correspondent for the published paper. Only one corresponding author is indicated in the manuscript.

Short title (max 50 characters including spaces)

Authors should provide a short title (after the corresponding author line) with the same specifications as the full title for use as a running head. If the short title is not appropriate, it could be modified by the Editorial Office, with the author's agreement.

Abstract (max 400 words, single paragraph)

The abstract should be complete and understandable, without reference to the paper. It is important to attract the attention of potential readers. The context and the rationale of the study are presented succinctly to support the objectives. Experimental methods and main results are summarised but should not be overburdened by numerical values or probability values. The abstract ends with a short and clear conclusion. Citations and references to tables and figures are not acceptable. Abbreviations used in the abstract must be defined in the abstract.

Keywords (5 keywords)

Keywords are essential in information retrieval and should not repeat words in the title with respect to indicating the subject of the paper.

Keyword directions

- Five keywords
- Keywords should be short and specific
- The animal species or type is among the keywords but differently from the title
- The use of non-standard abbreviations in the list of keywords is not allowed

Implications (max 100 words)

Implications must explain the expected impact that the results may have on practice, when they will be applied. Impact may be economic, environmental or social. Implications should not be limited to presenting the context and objectives, and should not be an "abstract of the abstract". They are written in simple English suitable for non-specialists or even non-science readers. Use of non-standard abbreviations is discouraged.

Introduction

The introduction briefly outlines the context of the work, presents the current issues that the authors are addressing and the rationale to support the objectives, and clearly defines the objectives. For hypothesis- driven research, the hypothesis under test should be clearly stated. Increasing the knowledge on a subject is not an objective *per se*.

Material and methods

Material and methods should be described in sufficient detail so that others can repeat the experiment. Reference to previously published work may be used to give

details of methods, provided that references are readily accessible and in English.

Critical methodologies, including mathematical equations and statistical models must be described in detail either in the Material and Methods section or in the Supplementary Materials. For these critical methodologies, results from quality control tests must be reported (e.g. intra/inter-assay CV, recovery tests...).

If a proprietary product is used as a source of material in experimental comparisons, it 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.

Statistical analysis of results

The statistical analysis of results should be presented in a separate sub-section of the "Material and methods" section. The statistical design and the models of statistical analysis must be described, as well as each of the statistical methods used. Sufficient statistical details must be given to allow replication of the statistical analysis. The experimental unit must be defined (e.g. individual animal, group/pen of animals). Generally, and when there are more than 2 treatments, an analysis of variance with F-tests is preferred to multiple *t*-tests. A statistical guide for authors is available on the website at <https://www.cambridge.org/core/journals/animal/information/instructions-contributors>. The publication of Lang and Altman (2013)² can also be used as a reference.

Statistics directions

- In the text, the probability of significance is indicated by 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. Exact level of probability (e.g. $P = 0.07$) can also be used
- When data are analysed by analysis of variance, a residual error term, such as the pooled standard error, the residual standard deviation (RSD), or the root mean square error (RMSE) is given for each criteria/item/variable/trait in a separate column (or line)
- Treatment means are reported with meaningful decimals. For guidance, the last digit corresponds to 1/10 of standard error (e.g., for a standard error of 1.2, the mean values should be reported as 15)
- In tables, probabilities are indicated in a separate column. The P values (e.g. $P = 0.07$) are reported or indicated by *, ** and *** for $P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.001$, respectively
- In tables, differences between treatments (or comparison of mean values) are indicated using superscript letters with 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

Results - Discussion

Separation between Results and Discussion is preferred to highlight the interpretation of results. Presentation of Results and Discussion in a single section is possible but discouraged.

Acknowledgements

In this section, the authors may acknowledge (briefly) their support staff, their

funding sources (with research funder and/or grant number), their credits to companies or copyrighted material, etc.

Declaration of interest. Papers with a potential conflict of interest must include a description/explanation of the conflict in the Declaration of interest section.

Ethics statement. Where relevant, approval of the work by an ethics committee or compliance of the work with national legislation, as relevant, must be described in this section.

Software and data repository resources. Authors must indicate whether their data or models are deposited in an official repository and give the full reference. They should also indicate the access rights.

References

Citations from international refereed journals or from national refereed journals with at least an English abstract are preferred. Citations from national abstracts/conference proceedings, MSc or PhD thesis, institutional/technical reports, non-English documents that cannot be obtained easily by the reader or that are not peer-reviewed should be minimized. In general, no more than 3 references can be given for the same statement (except for reviews and meta-analyses).

Citation of references. In the text, references should be cited by the author(s) surname(s) and the year of publication (e.g. Smith, 2012). References with two authors should be cited with both surnames (e.g. Smith and Wright, 2013). References with three or more authors should be cited with the first author followed by *et al.* (in italics; e.g. Smith *et al.*). Multiple references from the same author(s) should be as follows: Wright *et al.* (1993 and 1994), Wright *et al.* (1993a and 1993b). Names of organisations used as authors (e.g. Agricultural and Food Research Council) should be written in full in the list of references and on first mention in the text. Subsequent mentions may be abbreviated (e.g. AFRC).

"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.

In-text citation directions

- Cite references by name(s) of author(s) and year of publication
- Use Doe (2014) or (Doe, 2014) for single authors
- Use Doe and Smith (2014) or (Doe and Smith, 2014) for two authors
- Use Doe *et al.* (2014) or (Doe *et al.*, 2014) for three or more authors
- "et al." is in italics
- When multiple references are cited, rank them preferably by chronological order using commas and semicolons: (Doe, 1999; Smith and Doe, 2001; Doe *et al.*, 2014 and 2015)

List of references. Literature cited should be listed in alphabetical order by authors' names and references should not be numbered. **It is the author's responsibility to ensure that all references are correct.**

Journal article directions

References from journal articles are formatted as:

Author A, Author B, Author CD and Author E Year. Article title. Full Name of the Journal Volume, first-last page numbers.

Examples

- Berry DP, Wall E and Pryce JE 2014. Genetics and genomics of reproductive performance in dairy and beef cattle. *Animal* 8 (suppl. 1), 115–121.
- Knowles TG, Kestin SC, Haslam SM, Brown SN, Green LE, Butterworth A, Pope SJ, Dirk

- Pfeiffer D and Nicol CJ 2008. Leg disorders in broiler chickens: prevalence, risk factors and prevention. PLoS ONE 3, e1545.
- Martin C, Morgavi DP and Doreau M 2010. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. Animal 4, 351-365.
 - Pérez-Enciso M, Rincón JC and Legarra A 2015. Sequence- vs. chip-assisted genomic selection: accurate biological information is advised. Genetics Selection Evolution 47, 43. doi:10.1186/s12711-015-0117-5.
 - When the article is online but not yet printed, the right format is:
Zamaratskaia G and Squires EJ 2008. 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.
 - No punctuation (i.e. no comma or full stop or semicolon) between the surname and initials of an author, after initials, before publication years, after journal names and before volume numbers
 - Include "and" (without comma) before the last author for multiple author references
 - All authors' names are provided, do not use "*et al.*" in the reference list
 - Publication years are included after the author list without parentheses
 - No capitals for article titles except initial capital of the first word and words that ordinarily take capitals
 - Journal names are given in full (not in abbreviated form) and the initial letter of all main words is capitalised (except little words such as "and", "of", "in", "the" ...), e.g. Journal of Animal Science
 - Issue numbers are not mentioned
 - Use a comma (","), not a semicolon (";") before page numbers
 - Page numbers are given in full (e.g. "1488-1496" not "1488-96")

Book directions

- References from books or official reports are formatted as:
Author(s)/Editor(s)/Institution Year. Book title, volume number if more than 1, edition if applicable. Publisher's name, City, State (2-letter abbreviation) for US places, Country.
Examples
 - Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 2004. Official methods of analysis, volume 2, 18th edition. AOAC, Arlington, VA, USA.
 - Littell RC, Milliken GA, Stroup WW and Wolfinger RD 1996. SAS system for mixed models. Statistical Analysis Systems Institute Inc., Cary, NC, USA.
 - Martin P and Bateson P 2007. Measuring behaviour. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
 - National Research Council (NRC) 2012. Nutrient requirements of swine, 11th revised edition. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- The list of author or editor name(s) and publication years are written as for journal articles (all authors are provided; commas between authors, except for the last one; "and" before the last author where there are two or more authors; full stops after publication years)
Example
 - Author A, Author B, Author CD and Author E Year.
- No capitals for book titles except initial capital of the first word and words that ordinarily take capitals
- Detailed publisher information is given and listed as:

Publisher's name, City, State (2-letter abbreviation) for US places, Country.

Please note – if a publisher is based in more than one place, use only the first one. If multiple publishers are listed, it is acceptable to use only the first one.

Examples

- AOCS Press, Champaign, IL, USA.
- Cambridge University Press, Cambridge, UK.

International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

- FAO, Rome, Italy.

Book chapter directions

- References from chapters or parts of books are formatted as:
Author A, Author B, Author CD and Author E Year. Chapter title. In Title of book (ed.

A Editor and B Editor), pp. first-last page numbers. Publisher's name, City, State (2-letter abbreviation) for US places, Country.

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 (ed. E Kebreab, J Dijkstra, A Bannink, WJJ Gerrits and J France), pp. 40–47. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- The list of authors and publication years are written as for journal articles (all authors are provided; commas between authors, except for the last one; "and" before the last author where there are two or more authors; full stops after publication years)
Example
 - Author A, Author B, Author CD and Author E Year.
- No capitals for chapter and book titles except initial capital of the first word and words that ordinarily take capitals
- Detailed publisher information are given and listed as:

Publisher's name, City, State (2-letter abbreviation) for US places, Country.

Please note – if a publisher is based in more than one place, use only the first one. If multiple publishers are listed, it is acceptable to use only the first one.

Examples

- AOCS Press, Champaign, IL, USA.
- Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Editions Quae, Versailles, France.

Proceedings/Conference papers directions

- References from proceedings or conference papers are formatted as:

Author A, Author B, Author CD and Author E Year. Paper title. Proceedings of the (or Paper presented at the) XXth Conference title, date of the conference, location of the conference, pp. first-last page numbers or poster/article number.

Please note – If proceedings are published in a journal, the article should be formatted as for a journal article. If they have been published as chapters in a book, the article should be formatted as for a chapter in a book.

Examples

- 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 the 53rd International Congress of Meat Science and Technology, 5-10 August 2007, Beijing, China, pp. 581–582.
- 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, 26–29 August 2001, Budapest, Hungary.
- The list of authors and publication years are written as for journal articles (all authors are provided; commas between authors, except for the last one; "and" before the last author where there are two or more authors; full stops after publication years)

Example

- Author A, Author B, Author CD and Author E Year.
- No capitals for paper titles except initial capital of the first word and words that ordinarily take capitals
- Conference dates are provided in the format: DD Month YYYY, e.g. 10 August 2014
- Conference locations are given and listed as:

City, State (2-letter abbreviation) for US places, Country.

Examples

- Champaign, IL, USA.
- Cambridge, UK.
- Versailles, France.

Website directions

- References from websites are formatted as:

Author(s)/Institution Year. Document/Page title. Retrieved on DD Month YYYY (i.e. accessed date) from [http://www.web-page address \(URL\)](http://www.web-page address (URL)).

Examples

- Bryant P 1999. Biodiversity and Conservation. Retrieved on 4 October 1999, from

<http://darwin.bio.uci.edu/~sustain/bio65/Titlpage.htm>

- The list of author name(s) and publication years are written as for journal articles (all authors are provided; commas between authors, except for the last one; "and" before the last author where there are two or more authors; full stops after publication years)
Example
 - Author A, Author B, Author CD and Author E Year.
- No capitals for document/page titles except initial capital of the first word and words that ordinarily take capitals
- Dates when documents were retrieved are included in the format: DD Month YYYY,

e.g. 10 August 2014

- Web-page addresses are provided

Thesis directions

- References from theses are formatted as:

Author AB Year. Thesis title. Type of thesis, University with English name, location of the University (i.e. City, State (2-letter abbreviation) for US places, Country).

Example

- Vlaeminck B 2006. Milk odd- and branched-chain fatty acids: indicators of rumen digestion for optimisation of dairy cattle feeding. PhD thesis, Ghent University, Ghent, Belgium.
- Author's name and publication year are written as for journal articles
Example
 - Author AB Year.
- No capitals for thesis titles except initial capital of the first word and words that ordinarily take capitals
- Degree levels are given, e.g. PhD, MSc
- University names and locations are given and listed as:
- University name, City, State (2-letter abbreviation) for US places, Country.
Examples:
 - Louisiana State University, Baton Rouge, LA, USA.
 - Cambridge University, Cambridge, UK.

Tables

Tables should be simple. The same material should not be presented in tabular and graphical form. Please refer to the style sheet available at <https://www.cambridge.org/core/journals/animal/information/instructions-contributors>.

Table directions

- Each table is on a separate page at the end of the main text (one table per page)
- Tables are typed, preferably in double spacing. Single spacing is possible for long tables
- Tables are numbered consecutively using Arabic numbering. They are referred to as Table 1, Table 2, etc., with capital 'T', no italics
- Each table has its own explanatory caption. The caption is sufficient to permit the table to be understood without reference to the text. The animal species and the experimental treatments or the issue under study are indicated in each caption. The caption does not contain the protocol or the results
- Tables are created in Word using the table function within the programme (without using tabs). Layout can be portrait or landscape
- Large tables are discouraged in the manuscript but they may be submitted as Supplementary Material
- No vertical lines between columns and no horizontal lines between rows of data
- Generally, variables are in rows and treatments in columns
- Separate columns are included to present the basic statistical results: error terms (preferably residual error terms) and probabilities
- Row items are organized with main items followed by indented sub-items in order, e.g. to group the criteria that share the same type of measurements or the same unit
- For any (sub-)item, only the first letter of the first word is in capitals
- Units are clearly stated either in the caption (only if a limited number of units are

- used), or for each (sub-)item. Standard abbreviations for units are used
- Footnotes are referenced using superscript numbers
- Abbreviations used in a table are defined as footnotes (preferred option) or in the caption
- Treatment means are reported with meaningful decimals. For guidance, the last digit corresponds to 1/10 of standard error
- Number of decimals for the indicators of residual variability (RSD, SEM, RMSE etc.) are either identical to that chosen for mean values or have one more decimal. The choice is consistent in all the tables
- See above (Statistics) for the presentation of statistical results in tables

Figures

Figures should be simple. The same material should not be presented in tabular and graphical form. Specific guidelines are provided for images (see [Image Integrity and Standards](#)).

Figure directions

- Figure captions are all listed on a separate page at the end of the main text
- Figures are numbered consecutively in the text. They are referred to as Figure 1, Figure 2, etc., the word 'Figure' being spelled out with capital 'F', no italics
- Captions begin as Figure 1, Figure 2, etc. They are sufficiently detailed to allow the figure to be understood without reference to the text ("Figure 1 Effect of fat source and animal breed on carcass composition in pigs" is preferred to "Figure 1 Carcass composition"). The animal species and the experimental treatments or the issue under study are indicated in each caption. The caption does not contain the protocol or the results. Abbreviations used in each figure have to be defined in the caption and kept to a minimum
- Figures are not inserted in the text. Each figure (without caption) is uploaded separately with **one separate file per figure and no embedded captions in these files**
- Figure size should be readable in a width of approximately 175 mm (i.e. the maximum size of printing over two columns). Easy reading of the figure is required
- Ensure that the font size is large enough to be clearly readable at the final print size (should not be less than 8 point, or 2.8 mm, after reduction). We recommend you use the following fonts: Arial, Courier, Symbol, Times, Times New Roman and ensure that they are consistent throughout the figures. In addition, ensure that any fonts used to create or label figures are embedded if the application provides that option
- Symbols and line types should allow different elements to be easily distinguished (generally, solid symbols are used before open symbols, and continuous lines before dotted or dashed lines)
- Figures are usually supplied as black and white
- Colours can be used in figures if they are essential to understanding the figure. Publication charges are made for colour figures. The cost for reproducing figures in colour within the printed issue is £200.00 / \$320.00 per figure
- If figures are to be printed in colour, use CMYK (instead of RGB) colour mode preferably
- Figures should be provided as TIFF or EPS files. Other formats, such as MS Word, MS Excel, MS PowerPoint, AI and layered PSD (up to CS5), are permitted, provided that figures have been originally created in these formats and that the embedded artwork is at a suitable resolution.
- Resolutions for TIFF figures at the estimated publication size must be:
 - for line figures (e.g. graphs) – 1200 dpi (6000 px for 1 column, 8400 px for 2 columns)
 - for figures with different shadings (e.g. bar charts) – 600 dpi (3000 px for 1 column, 4200 px for 2 columns for half tones (e.g. photographs) – 300 dpi (1500 px for 1 column, 2100 px for 2 columns)
- Images from the internet are unacceptable, because most of them have a resolution of only 72 dpi

- If your drawing/graphics application does not provide suitable ‘export’ options, then copy/paste or import the graphic into a Word document
- For further information, please refer to the Cambridge Journals Artwork Guide, which can be found online at: <http://journals.cambridge.org/artworkguide>

Image Integrity and Standards

Any image produced by an instrument (e.g. scanner, microscopy...) with the objective of being used to derive quantitative results is considered as original data. Manuscripts that report images without any quantitative findings are not acceptable. Digitalisation of an image converts the image into numerical values that can be analysed like any other numerical values. The full information may prove important beyond what the author would like to show. Hence images submitted with a manuscript should be minimally processed; some image processing is acceptable (and may be unavoidable), but the final image must accurately represent the original data and exclude any misinterpretation of the information present in the original image. If original data are used just to illustrate a point, this should be accompanied by a clear statement in the manuscript telling the reader this and explaining what is being demonstrated. Please refer to the [Office of Research Integrity guidelines](#) on image processing in scientific publication.

Image Integrity and Standards directions

- Image acquisition: Equipment and conditions of image acquisition and processing must be detailed in the Material and methods section. This includes the make and model of equipment, the acquisition and the image processing software, and the image treatment if any. If you export files from an acquisition device, make sure to use a format with no loss of information and do not file them into a higher resolution than that of acquisition. Authors have the responsibility to archive original images, with their metadata, in their original format without any compression or compressed without loss of information.
- Preparation of images for a manuscript: For guidance, we refer to the Journal of Cell Biology’s instructions to authors (http://jcb.rupress.org/site/misc/ifora.xhtml#image_aquisition) which states:
 - 1) No specific feature within an image may be enhanced, obscured, moved, removed, or introduced.
 - 2) The grouping of images from different parts of the same gel, or from different gels, fields, or exposures must be made explicit by the arrangement of the figure (i.e., using dividing lines) and in the text of the figure legend.
 - 3) Adjustments of brightness, contrast, or color balance are acceptable if they are applied to every pixel in the image and as long as they do not obscure, eliminate, or misrepresent any information present in the original, including backgrounds. Non-linear adjustments (e.g., changes to gamma settings) must be disclosed in the figure legend.

For further information, image examples, and more detailed guidance, we advise reading [What’s in a picture? The temptation of image manipulation](#) (reprinted in the *Journal of Cell Biology* (2004) 166, 11-15).

- If a cropped image is included in the main text of a paper (e.g. a few lanes of a gel), display the full original image, including the appropriate controls, the molecular size ladder and/or the scale as relevant, as a single figure in a Supplementary Material file to facilitate peer-review and for subsequent on-line publication.
- The statistical analysis applied to the quantitative data associated with images must clearly define the statistical unit considered (e.g. the animal, the sample).
- Image screening prior to acceptance: Digital images from manuscripts nearing acceptance for publication will be screened for any evidence of improper manipulation or quality. If the original images cannot be supplied by authors on request, the journal reserves the right to reject the submission or to withdraw the published paper.

Supplementary material

Authors can include supplementary material in any type of article. Detailed description and results of quality control checks of critical methodologies should be reported in Supplementary materials if not included in the Material and methods section. Supplementary material will appear only in the electronic version. A link to this on-line supplementary material will be included by the Copy Editor at the proof stage. Supplementary material will be peer-reviewed along with the rest of the manuscript. The main text of the article must stand alone without the supplementary material. Supplementary material should be presented according to the instructions for the main text. **It will not be copy-edited and authors are entirely responsible for the presentation of the supplementary material according to animal's style.**

Supplementary material directions

- In the main text, supplementary material are referred to as:
"Supplementary Table S1", "Supplementary Table S2", etc. for tables
"Supplementary Figure S1", "Supplementary Figure S2", etc. for figures

"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 and Supplementary Table S1 reports, etc."

- Supplementary material is submitted along with the main manuscript in a separate file and identified at uploading as "Supplementary File – for Online Publication Only"
- The title of the article and the list of authors are included at the top of the supplementary material
- No line numbering
- Single spacing
- Unlike the figures included in the main text, each supplementary figure has its own title embedded below the figure

Typographical conventions

Title and headings

As illustrated, and detailed above and in the style sheet (see <https://www.cambridge.org/core/journals/animal/information/instructions-contributors>), the *animal* conventions apply to (a) *Title* of the paper, Authors' names and addresses; (b) *Main section headings*, such as Abstract, Implications, Introduction, Material and methods, Results, Discussion, Acknowledgements, Declaration of interest, Ethics committee, Software and data repository resources, References; and (c) two levels of *Subheadings*.

Title and heading directions

- Title – use bold, with an initial capital for the first word only and for words that ordinarily take capitals
- Authors' names – use lower case with initials in capitals (e.g. J. Doe)
- Authors' addresses – use italics
- Headings are left aligned with an initial capital for the first word only, and not numbered
- Main section headings – use bold with no full stop at the end; text follows on the next line (e.g. **Abstract**)
- Subheading (level 1) – use italics with no full stop at the end; text follows on the next line (e.g. *Experimental design*)
- Sub-subheading (level 2) – use italics and end with a full stop; text follows on the same line (e.g. *Milk fatty acid composition*. The fatty acid...)

Abbreviations

Standard abbreviations (Table 2) are not defined. Non-standard abbreviations are

defined at first use separately in the abstract and in the main text, they should be written in **bold capitals at first occurrence**. To facilitate understanding of the manuscript, the number of abbreviations should be kept to a minimum (not more than 10 non-standard abbreviations is advised). Abbreviations in the titles, (sub)headings or keywords are discouraged.

Abbreviation directions

- Define abbreviations at first appearance in the abstract and in the main text
- Authors should avoid excessive use of non-standard abbreviations (a maximum of 10 is advised)
- No author-defined abbreviation in the (short) titles, in (sub)headings or in keywords
- Abbreviations used in tables and figures must be defined either as footnotes or in the caption
- Do not start a sentence with an abbreviation.

Table 2 Abbreviations that do not require definition

Item	Definition
Standard abbreviation	
ACTH	Adrenocorticotrophic 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
DM	Dry matter
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
PMS	Pregnant mare serum
G	gonadotropin

RNA	Ribonucleic acid
SDS	Sodium dodecyl sulfate
UV	Ultraviolet
Standard statistical abbreviation	
CV	coefficient of variation
df	degrees of freedom
EMS	expectation of mean square
F	variance ratio
LSD	least significant difference
MS	mean square
P	probability
use ns	$P \leq 0.05$, in tables
use *	$P \leq 0.05$, in tables
use **	$P \leq 0.01$, in tables
use ***	$P \leq 0.001$, in tables
r	simple correlation coefficient
R	multiple correlation coefficient
R^2	coefficient of determination
rSD	residual standard deviation
RMSE	root mean square error
SD	standard deviation
SED	standard error of difference
SEM	standard error of mean
Sy.x	standard error of estimate
ζ^2	chi square

The names of the chemicals do not need to be written in full; chemical symbols are sufficient. Fatty acids are abbreviated using the rule: 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 discouraged and replaced by "n-3" and "n-6", e.g. 18:3n-3. Trivial names can be used for 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

Capitals directions

- Initial capitals are used for proper nouns, for adjectives formed from proper names, for generic names and for names of classes, orders and families
- Names of diseases are not normally capitalised

Italics

Italics directions

Use italics for:

- Authors' addresses (see above)
- Subheadings (see above)

- Titles for tables (but not captions for figures)
- 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*, *m. biceps femoris*

but no italics for c.f., corpus luteum, e.g., etc., i.e., NB, via

- Mathematical unknowns and constants
- 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*)

Numerals

Numerals directions

- In text, use words for numbers zero to nine and numerals for higher numbers. In a series of two or more numbers, use numerals throughout irrespective of their magnitude
- Do not begin sentences with numerals
- For values less than unity, 0 is inserted before the decimal point
- For large numbers in the text, substitute 10^n for part of a number (e.g. 1.6 10^6 for 1 600 000)
- Do not use a comma separator for numbers greater than 999 (e.g. 100 864)
- The multiplication sign between numbers should be a cross (x)
- Division of one number by another should be indicated as follows: 136/273.
- Use numerals if a number is followed by a standard unit of measurement (e.g. 100 g, 6 days, 4th week).
- Use numerals for dates, page numbers, class designations, fractions, expressions of time, e.g. 1 January 2007; type 2
 - Dates are given with the month written in full and the day in numerals (i.e. 12 January *not* 12th January).
 - 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 at <http://physics.nist.gov/cuu/Units/units.html>. Recommendations for conversions and nomenclature appeared in *Proceedings of the Nutrition Society* (1972) 31, 239-247. Some frequently used units that are not in the SI system are accepted: e.g. l for litre, ha for hectare, eV for electron-volt, Ci for curie. Day, week, month and year are not abbreviated. The international unit for energy (energy value of feeds, etc.) is Joule (or kJ or MJ).

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). When there are two quotients, represent as: g/kg per day (not g/kg/day).

Concentration or composition

Composition is expressed as mass per unit mass or mass per unit volume. The term *content* should not be used for concentration or proportion.

Submission of the manuscript

Manuscript submission is made electronically through *Editorial Manager* directly via <http://www.editorialmanager.com/animal>. Any query about a submission to the Editorial Office should be addressed through this site. Authors can check the status

of their manuscript using *Editorial Manager*. Authors should ensure that the email address of the corresponding author is correct.

You must submit separate files for:

- The manuscript (including full text, tables, figure captions, but excluding figures) in DOC/DOCX or RTF format (PDF is not accepted)
- Each figure (without captions). At submission in *Editorial Manager*, enter a description of each figure (Figure 1, Figure 2a, etc.) in the appropriate box
- Supplementary online-only materials, if relevant

Authors who submit a manuscript to the online submission system also have to provide:

- the type of article (research, short communication, review, special issue paper, invited opinion, etc.).
- the section of the scope which is the most appropriate for their manuscript.
[\(https://www.cambridge.org/core/journals/animal/information/scope\).](https://www.cambridge.org/core/journals/animal/information/scope)
- any comment and information that might be helpful to the editors ("letter to the editor", etc.; in "Author's comments").
- The names and e-mail addresses of at least 3 potential reviewers. Reviewers should have no conflict of interest with the authors or the submission. Authors 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.
- The names of up to 3 opposed reviewers in case of established conflict of interest.

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 or if a review article is of interest to the journal) should be addressed through questions@animal-journal.eu.

Copyright agreement and permission

If the paper is accepted for publication, authors are required to complete and sign a Copyright Transfer Form. Two versions of the form (Standard and Open Access) may be downloaded at <https://www.cambridge.org/core/journals/animal/information/transfer-copyright>. The Standard (also called Green OA) option is free of charge and allows authors to archive publications in repositories (see terms and conditions in the 'Re-use of your article' section of the Standard form).

The Open Access (also called Gold OA) option allows authors to make their articles freely available to everyone, immediately on publication and after the payment of the Open Access Article Publication Charge (\$2835).

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.

For supplements or special issues, the journal requires that the transfer of copyright form be supplied at submission in order to avoid publication delays.

Apêndice C – Normas para redigir o capítulo III – Publicação no periódico Journal of Animal Science

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS (REVISED 2017)

Journal of Animal Science

The Instructions for Authors, *Journal of Animal Science* (JAS) is divided into 2 sections:

I. Manuscript Preparation, which describes the Style and Form that authors must follow in the preparation of manuscripts; and

II. Policies and Procedures of JAS, which describes the mission of JAS, contact information, care and use of animals, protection of human subjects, conflict of interest, types of articles published in JAS, manuscript submission, copyright policies, review procedures and policies, papers in press, author proofs, and publication charges.

I. MANUSCRIPT PREPARATION (STYLE AND FORM)

The most important thing authors can do as they prepare their manuscripts is to consult a recent issue of JAS to see the acceptable format for headings, title page, ABSTRACT, Key words, INTRODUCTION, MATERIALS AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION (or combined RESULTS AND DISCUSSION), LITERATURE CITED, and tables and figures (including figure captions). Each of these topics is described in this document. The headings are shown in uppercase letters to illustrate how they should appear in manuscripts. A basic manuscript template in Microsoft Word is available at <http://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/infora>. **Manuscripts that are not consistent with the Instructions for Authors will be immediately rejected.**

General. Manuscripts must be written in English and must use American spelling and usage, as well as standard scientific usage. The following online resources provide detailed information.

- For general style and form, authors should follow that recommended in *Scientific Style and Format: The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers*. 7th ed. Council of Science Editors, Reston, VA.
- For American English spelling and usage, consult Merriam-Webster Online. <http://www.m-w.com/>
- For how to use numbers, refer to Policies Regarding Number Usage later in this document.
- For SI units, the National Institute of Standards and Technology provides a comprehensive guide. <http://physics.nist.gov/cuu/Units/index.html>
- For capitalization and spelling of plants, consult the USDA Plants website. <http://plants.usda.gov>
- For anatomical nomenclature, consult the current *Nomina Anatomica Veterinaria*. www.wava-amav.org/Downloads/nav_2012.pdf
- For bacterial nomenclature, consult Approved Lists of Bacterial Names. <http://www.bacterio.net/alintro.html>

Manuscripts should be prepared double-spaced in Microsoft Word, with lines and pages numbered consecutively, using Times New Roman font at 12 points and no less than 2.54-cm (1 inch) margins all around. Special characters (e.g., Greek

and symbols) should be inserted using the symbols palette available in this font.

Complex equations should be entered using Math-Type (<http://www.dessci.com/en/products/mathatype/>) or the Word Equation tool within your Word document. Do not insert equations as images; images will need to be re-keyed by hand by layout staff, which may introduce errors.

Tables and figures should be placed in separate sections at the end of the manuscript, and not placed in the text. Manuscripts should be uploaded to Thomson Reuters ScholarOne Manuscripts (formerly called Manuscript Central) using the fewest images possible to facilitate the review and editing processes.

Manuscripts should contain the following sections in this order.

Title Page. The title page includes a running head (the first word only and any proper nouns capitalized and no more than 45 keystrokes [i.e., characters and spaces; a space is counted as a keystroke]); the title (only the first word and any proper nouns capitalized, as brief as possible, and including the species involved); names of authors (e.g., T. E. Smith; no title, positions, or degrees) and institutions, including the department, city, state or country (all with first letters capitalized), and ZIP or postal code. Author affiliations are footnoted using the symbols *, †, ‡, §, #, ||, and ¶ and are placed below the author names. If a consortium is listed in the byline, a footnoted reference to a website showing the names and affiliations of each member of the consortium should be included in acknowledgements; names and affiliations of each member of the consortium will not be listed on the title page. Superscript numbers are used to reference footnotes on the first page. Acknowledgments, including acknowledgements of consortia, grants, experiment station, or journal series number, are given as a footnote to the title. **Authors disclosing potential or actual conflicts of interest related to**

the research presented in the manuscript should describe this in a footnote with other acknowledgements (for details, see *Conflict of Interest*).

Abstract. ABSTRACT consists of no more than 2,500 keystrokes (characters and spaces) in one paragraph and contains a summary of the pertinent results, with statistical evidence (i.e., P-values), in a brief but understandable form, beginning with a clear

statement of the objective and ending with the conclusions, with no references cited. Abbreviations in the abstract that are not in **Standard JAS Abbreviations** must be defined at first use.

Key words. List up to 6 key words or phrases including the species, variables tested, and major response criteria. The first letter of each key word is lowercase, unless it is a proper noun; key words are separated by commas and presented in alphabetical order; and no abbreviations should be used. Because major words in the title are not used for the subject index, which is published in the last issue of each volume of *JAS*, appropriate words from the title should be listed as key words.

Introduction. INTRODUCTION must not exceed 2,000 keystrokes (characters and spaces) and must contain a brief justification for conducting the research, the hypotheses to be tested, and the objective(s). Extensive discussion of relevant literature should be included in DISCUSSION, not in INTRODUCTION.

Materials and Methods. MATERIALS AND METHODS is a required section and must contain a clear description or specific original reference for all biological, analytical, and statistical procedures. All modifications of procedures must be explained. Details, dates of experimental

activities if appropriate, animals (breed, sex, age, body weight, and weighing conditions [i.e., with or without restriction of feed and water]), surgical techniques, measurements, and statistical models should be described clearly and fully. Manufacturer information must be provided at the first mention of each proprietary product used in the research (for details see, ***Commercial Products***). Appropriate statistical methods should be used, although the biology should be emphasized. The threshold (e.g., $P < 0.05$) for significance should be stated. A statement of the results of the statistical analysis should justify the interpretations and conclusions. The experimental unit is the smallest unit to which an individual treatment is imposed. Measurements on the same experimental unit over time are not independent and should not be considered as independent experimental units. Provide a validation for assays (e.g., mean and CV for repeated analysis of a sample [both between and within-assay if available] and the sensitivity [minimum amount or concentration detectable]). Also, provide a publication reference for the methods used in kits. Centrifugal force should be provided in $\times g$, not rpm, and duration and temperature of centrifugation must be included. Include volume of blood collected, container used, and amount of preservative or anticoagulant (e.g., 10 μL of heparin).

Results. RESULTS are presented in the form of tables or figures when feasible. The text should explain or elaborate on the tabular data, but numbers should not be repeated within the text. Sufficient data, all with some index of variation attached, including significance level (i.e., P -value), should be presented to allow readers to interpret the results of the experiment. Reporting the P -value is preferred to the use of the terms significant and highly significant, which are more editorial than quantitative descriptions. Thus, the P -value (e.g., $P = 0.042$ or $P < 0.05$) should be presented, thereby allowing readers to decide what to reject. Other probability (alpha) levels may be discussed if properly qualified so that the reader is not misled (e.g., trends in the data).

Discussion. DISCUSSION contains the author's, or authors', interpretations of the results of the study. The presentation should be clear and concise, address biological mechanisms and their significance, and integrate the research findings with the body of previously published literature to provide readers with a broad base on which to evaluate the author's, or authors', interpretations and assertions. Authors may speculate, but they should make it clear that their statements are speculative, rather than factual. A stand-alone DISCUSSION should not refer to any tables or figures, nor should it include P -values, unless citing a P -value from another work. The discussion must be consistent with the data from the research.

Results and Discussion. In JAS, authors have the option of combining the results and discussion into one section.

Literature Cited. To be listed in LITERATURE CITED, papers must be published or accepted for publication ("in press"). Personal communications and unpublished data must not be included in LITERATURE CITED. Guidelines and formats for references and citations are described in the Literature Cited Section of this document.

Tables and Figures. Tables and figures must be prepared so they meet the stand-alone criterion; that is, information in a table or figure can be understood without referring to information in the body of the manuscript. Tables and figures shall be placed at the end of the manuscript. Each table and each figure shall be placed on a separate page (separated with section breaks) and identified with table and figure numbers. Author-defined abbreviations must be defined (or redefined) in each table and figure. Manufacturer name and location must be provided for any proprietary product appearing in a table or figure.

Tables must be created using the table feature in MS Word (for instructions, see **Guidelines for Creating Tables Using Microsoft Word** (<http://www.animalsciencepublications.org/>

les/publications/jas/ wordtableguidelines-jas.pdf). Refer to a recent issue of *JAS* for examples of table construction. When possible, tables should be organized to fit across the page (i.e., portrait layout) without running broadside (i.e., landscape). Each column must have a heading (e.g., Item, Ingredient, Trait, Fatty acid). Units (e.g., kg) should be separated from headings by a comma, rather than being shown in parentheses. Limit the data field to the minimum needed for meaningful comparison within the accuracy of the methods. In the body of the table, numerals are used to reference footnotes. Each footnote should begin on a new line. Lowercase, superscript letters are used to indicate significant differences among means within a row or column and to reference footnotes explaining how to interpret the letters.

Figures should follow the **Quality Guidelines for Journal of Animal Science (JAS) Figures** (<http://www.animalsciencepublications.org/les/publications/jas/infora-guidelines-for-figures.pdf>). Figure captions should be typed double-spaced on a separate page. Now that *JAS* is a fully electronic publication, authors are encouraged to use color to enhance figures; there are no additional fees for color figures and images in issues of *JAS*.

Individuals may purchase print-on-demand copies of *JAS* issues from Sheridan Press. Print-on-demand copies will contain gray-scale, rather than color, figures and images. To purchase these, contact Sheridan at *Journal of Animal Science* or American Society of Animal Science, PO Box 465, Hanover, PA 17331 P: 717-632-3535, F: 717-633-8920, E: pubsvc.tsp@sheridan.com.

Appendices. An appendix or appendices are optional and used to provide numerical examples or give extensive detail of analytical procedures. However, if the supplemental material is of interest only to a limited number of *JAS* readers, it should not be included as an appendix. Instead, state that supplemental information is available on request from the

corresponding author; addresses for websites with appropriate supplemental information are acceptable. If extensive, the data may be included as an e-supplement to the manuscript (see **E-Supplements**). Appendices should follow LITERATURE CITED and be introduced with a major heading (e.g., APPENDIX 1: TITLE).

E-Supplements. Authors may present material in an e-supplement (e.g., detailed data sets, Excel files, and video) that is more extensive or detailed than necessary for a *JAS* article. A note will appear in the *JAS* article that more material can be found online. Material in an e-supplement must undergo peer review and, thus, should be in a format that is easily accessible (i.e., does not require dedicated software or software that is not generally available) to most reviewers and readers.

Additional Usage Notes

Abbreviations. Except to begin a sentence and when specifically contraindicated (e.g., units of time should only be abbreviated when used with a number), authors must use the abbreviations that are listed in this document under **STANDARD JAS ABBREVIATIONS**. Abbreviations in the text that are not listed in **STANDARD JAS ABBREVIATIONS** must be defined at first use, unless they are international abbreviations for elements, units of measure, amino acids, and chemicals, as examples. Abbreviations listed in **STANDARD JAS ABBREVIATIONS** or standard international abbreviations cannot be used to create author-defined abbreviations (e.g., t = metric ton and cannot be used as an abbreviation for time, temperature, or treatment; C = carbon and cannot be used for Control).

Numbers. For details, see **Policies Regarding Number Usage for Journal of Animal Science** later in this document.

Once defined, author-defined abbreviations should always be used, except to begin a

sentence. Author-de ned abbreviations must be de ned in the abstract and rede ned at rst use in the body of the manuscript, in each table, and in each gure. Authors should avoid excessive use of author-de ned abbreviations.

Gene and Protein Names. Because there is no universally accepted style for gene and protein names that applies to all species, the JAS asks authors to assume the responsibility of using the convention appropriate for the particular species. Some general guide- lines can be found in the *CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers* (7th ed., 2006). For example, the gene that codes for the protein p53 is *TP53* in hu- mans and *Trp53* in mice (note that, by convention, gene names are italicized, and protein names are generally not italicized).

Quantitative Trait Loci and DNA Markers and Microarray Data.

Authors of papers that contain original quantitative trait loci (QTL) or DNA marker- association results for livestock are strongly encour- aged to make their data available in an electronic form to one of the publicly available livestock QTL databases *after the manuscript appears on the JAS First Look website* (<http://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/rst-look>). The date on which the paper is posted to the JAS- Papers in Press website may represent the of cial public disclosure date for the contents of the article. Current QTL databases for livestock include, but may not be limited to, the Animal QTL database (<http://www.animalgenome.org/QTLdb>) and the Bovine QTL database (<http://genomes.sapac.edu.au/bovineqtl/index.html>). Similarly, for micro- array data we request that all authors using mi- croarray data analysis in their research submit a complete data set to 1 of 3 databases before submis- sion of a manuscript: the NCBI Gene Expression Omnibus (GEO; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/geo>), the EMBL-EBI ArrayExpress repository (<http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress>), or

the Center for Information Biology Gene Expression (CIBEX) data- base.

Commercial Products. The use of names of com- mercial products should be minimized. When a com- mercial product is used as part of an experiment, the manufacturer name and location (city and state if in the US; city, administrative region or district [e.g., province], and country if outside the US) or a website address must be given parenthetically at rst mention in text, tables, and gures. The generic name should be used subsequently. No TM, ®, or © symbols should be used.

General Usage.

- Abbreviations are not used to begin sentences. Words must be spelled out.
- “Sex” should be used, rather than “gender.” Gender is more appropriate for describing a role in society than for describing biological sex.
- State total sample size (e.g., the study included a total of 600 animals), rather than using “N” to represent total sample size.
- The hierarchy for brackets and parentheses is [()]. For example, [(2 + 3) × (12 ÷ 2)] × 2 = 60.
- Meat shear force should be expressed in kilo- grams (kg), although newtons (N) may also be acceptable.
- Report time using the 24-h system (e.g., 1410 h rather than 2:10 p.m.). Use italics to designate genus and species (e.g., *Bos taurus*) and botanical varieties (e.g., *Medi- cago sativa* var. Potomac). Designations for bo- tanical cultivars should be preceded by “cv.” or enclosed in single quotes (e.g., *Festuca arundi- nacea* cv. Kentucky 31 or *Festuca arundinacea* ‘Kentucky 31’).
- Names of muscles are not italicized.
- Specify the basis (i.e., as-fed or dry matter) for dietary ingredient and chemical composition data listed in text or in tables. Similarly, specify the basis for tissue composition data (e.g., wet or dry basis).

- Calculations of efficiency should be expressed as output divided by input (i.e., gain:feed, not feed:gain).
- A diet is a feedstuff or a mixture of feedstuffs; a ration is the daily allotment of the diet.
- The word “Table” is capitalized and never abbreviated.
- Except to begin a sentence, the word “Figure” should be abbreviated to “Fig.”
- Except to begin a sentence, experiment and equation should be abbreviated to Exp. and Eq., respectively, when preceding a numeral (e.g., Exp. 1).
- Avoid jargon unfamiliar to scientists from other disciplines. Do not use the term “head” to refer to an animal or group of animals. Instead, use animal, sow, ewe, steer, heifer, cattle, etc.
- Avoid bi- as a prefix because of its ambiguity; biweekly means twice per week and once every 2 weeks.
- Breed and variety names should be capitalized (e.g., Landrace and Hereford).
- Trademarked or registered names should be capitalized, but no TM or ® symbols should be used.

II. POLICIES AND PROCEDURES OF JAS

The mission of the American Society of Animal Science (ASAS) is to “*foster the discovery, sharing, and application of scientific knowledge concerning the responsible use of animals to enhance human life and well-being*” (<https://asas.org/about-asas/history-and-mission>). The *Journal of Animal Science*, which is published monthly by ASAS, accepts manuscripts presenting information for publication with this mission in mind.

The *JAS* is divided into the following Sections: Animal Genetics; Animal Nutrition: Nonruminant Nutrition; Animal Nutrition: Ruminant Nutrition; Animal Physiology; Animal Production; Animal Products; Special Topics; and Symposia, which contains invited manuscripts from symposia at ASAS

meetings. Manuscripts that do not fit one of the *JAS* Sections will not be considered for publication.

The Editor-in-Chief, Associate Editor-in-Chief, Managing Editor, and Section Editors establish the editorial policies of *JAS*, subject to review by the publications committee and ASAS Board of Directors. The views expressed in articles published in *JAS* represent the opinions of the author(s) and do not necessarily reflect the official policy of the institution with which an author is affiliated, the ASAS, or the *JAS* Editor-in-Chief. Authors are responsible for ensuring the accuracy of collection, analysis, and interpretation of data in manuscripts and ultimately for guaranteeing the veracity of the contents of articles published in *JAS*.

Contact Information

For information on the scientific content of the journal, contact the Editor-in-Chief, Dr. James Sartin, American Society of Animal Science, P.O. Box 7410, Champaign, Illinois 61826-7410; e-mail: jsartin@asas.org.

For questions about submitting a manuscript and ScholarOne Manuscripts, contact Lauren Van Driel, Submission Services Manager; e-mail: lvandriel@sciencesocieties.org.

For assistance with author proofs, contact Ms. Emily Mueller, Managing Editor; e-mail: emueller@sciencesocieties.org.

Care and Use of Animals

All authors submitting to *JAS* must complete the Care and Use of Animals form certifying that any research that involves animals has followed established standards for the humane care and use of animals and must specify which standards were used. Only investigations that have followed high standards for the humane care and use of animals in research will be reported in *JAS*.

Also, the manuscript must include a statement of institutional animal care and

use committee (IACUC), or equivalent, approval of all animal procedures. The IACUC statement should appear as the first item in MATERIALS AND METHODS and should specify which publically available animal care and use standards were followed (e.g., ADSA-ASAS-PSA Guide for Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching; Primary Industries Ministerial Council, Model code of practice for the welfare of animals: the sheep). The manuscript should describe anesthetics, analgesics, tranquilizers, and care taken to minimize pain and discomfort during preoperative, operative, and postoperative procedures. If research requires discomfort to the animals or stressful conditions, justification for these conditions must be evident in papers published in JAS.

Protection of Human Subjects

In the United States, federally funded or regulated research involving human subjects must comply with Code of Federal Regulations (CFR), Title 45 Public Welfare, Part 46 Protection of Human Subjects. However, CFR 45 Part 46.101(b) exempts some research from these regulations. For all exempted research and other details, see <http://www.hhs.gov/ohrp/human-subjects/guidance/45cfr46.html>.

Exempted research includes that in which the only involvement of human subjects is for “taste and food quality evaluation and consumer acceptance if 1) wholesome foods without additives are consumed or 2) a food is consumed that contains a food ingredient at or below the level and for a use found to be safe, or agricultural chemical or environmental contaminant at or below the level found to be safe, by the Food and Drug Administration or approved by the Environmental Protection Agency or the Food Safety and Inspection Service of the U.S. Department of Agriculture.” If human subjects were used in exempted research and the research was in compliance with CFR 45 Part 46, or equivalent regulations where the research was conducted, authors must state in MATERIALS AND METHODS or acknowledgements that they were in

full compliance. If human subjects were used in research that was not exempted in CFR 45 Part 46, or equivalent regulations where the research was conducted, authors must certify that the research received a priori approval from an appropriate Institutional Review Board.

Conflict of Interest

All JAS editors, ASAS staff, ASAS Board of Directors, and submitting authors must disclose any actual or potential conflicts of interest that may affect their ability to objectively present or review research or data. This generally includes any relevant professional, personal, political, intellectual, religious, or financial interest in, or relationship with, an individual or business that could have an actual or perceived influence, positive or negative, on the conduct and publication of the research or data. Financial relationships generally refer to financial benefits accrued to authors through avenues such as salary, consulting fees, honoraria (including paid holidays, use of vacation property, country club privileges, and other nonmonetary rewards for service), intellectual property rights, royalties, business ownership, and investments, other than diversified mutual funds or the equivalent.

Disclosures for JAS authors are to be provided as an acknowledgement on the title page of a manuscript (for instructions, see **Title Page**). The JAS may use such information as a basis for editorial and publication decisions, and may publish such disclosures if that is deemed relevant and sufficient. The JAS editors, ASAS staff, and ASAS Board of Directors with actual or potential conflicts of interest that may affect their ability to objectively evaluate or manage a manuscript will be prevented from gaining access to the manuscript and associated documents, unless they are an author or coauthor, in which case ScholarOne Manuscripts will limit their access to the Corresponding Author Center. When the current Editor-in-Chief, for example, has an actual or potential conflict of interest with a manuscript, a former Editor-in-Chief will

assume the responsibilities of the Editor-in-Chief for that manuscript.

Types of Articles

Articles published in *JAS* encompass a broad range of research topics in animal production and fundamental aspects of genetics, nutrition, physiology, and preparation and utilization of animal products. Many articles are multidisciplinary and cannot be conveniently categorized. Articles typically report research with cattle, goats, pigs, and sheep. However, studies involving other farm animals (e.g., poultry and meat and working horses) and companion animals, including performance and recreational horses, aquatic, and wildlife species will be considered for publication. Studies with laboratory animal species that address fundamental questions related to the biology of livestock, companion animals, and other managed animals may be considered.

The preceding paragraph is not meant to exclude manuscripts but, rather, is a clarification of the focus of *JAS*. Authors may contact the Editor-in-Chief or Associate Editor-in-Chief if there are questions about whether the topic of a manuscript is appropriate for *JAS*.

Research Articles. Results of research contained in manuscripts submitted to *JAS* must not have been published in or submitted previously to a peer-reviewed scientific journal. Previous presentation at a scientific meeting or the use of data in end-day reports or similar documents, including press publications or postings to personal or departmental web-sites, do not preclude the publication of such data in *JAS*. However, abstracts, proceedings papers, end-day reports, or similar presentations that are expanded to produce full-length manuscripts should be referenced and cited in *JAS* manuscripts. Articles simultaneously posted to websites and submitted to *JAS* should carry a disclaimer on the website that this version of the paper has not undergone *JAS* peer-review and is not to be considered the final

published form of the article. If the article has been published in *JAS*, the author should include the complete *JAS* citation so that proper credit can be given to *JAS* as the publisher of the article. Because *JAS* holds the copyright to articles it publishes, posting altered *JAS* articles that are represented as exact duplicates of the published version constitutes copyright violation.

Review Articles. The journal publishes invited review articles. The Editor-in-Chief, in consultation with the Associate Editor-in-Chief, Section Editors, and the ASAS Board of Directors, identifies invited reviews. Section Editors may solicit proposals for review articles to be published in *JAS*, after consultation with and approval by the Editor-in-Chief; the authors may be responsible for a portion of the publication charges for invited reviews. Unsolicited review articles will not be considered.

Special Topics. This Section includes Biographical or Historical Sketches and Contemporary Issues in the animal sciences. Even though Biographical or Historical Sketches are part of the Special Topics Section, they will be published on the ASAS web-site and in the Association News section of *JAS*. The frequency of publication depends on the availability of the prepared sketches. For more information, see <http://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/infora>.

Contemporary Issues include topics such as environmental concerns, legislative proposals, systems analysis, and various "newsworthy" scientific issues. Even though Contemporary Issues manuscripts do not have to include original data, authors' assertions should be substantiated with references to established information from credible published sources.

Special Topics papers will be subject to peer review in a manner similar to other *JAS* submissions. Because of the nature of these manuscripts, their format may vary from that of standard scientific articles,

although ABSTRACT and INTRODUCTION must be consistent with keystroke (characters and spaces) limitations defined earlier in this document.

Teaching articles should be submitted to *Natural Sciences Education*, which is a joint venture of several professional societies, including the ASAS. Articles in *Natural Sciences Education* are “written by and for educators in extension, universities, industry, administration, and grades K–12” and highlight teaching techniques, concepts, ideas, and other teaching-related issues. The goal is build a portfolio of teaching-related articles that can be accessed at a single location. For detailed information about *Natural Sciences Education*, see <https://www.agronomy.org/publications/ns-e>.

Rapid Communications. *JAS* is now considering rapid publication of short communications that are considered novel and highly significant to animal science. Submitted papers should follow *JAS* guidelines, but are restricted to 2 figures or tables or a combination of 1 figure/1 table. The words “Rapid Communication.” should begin the title. When preparing the file, please include the following at the top of the first page, in bolded text: **NOTE: THIS IS A RAPID COMMUNICATION SUBMISSION.** This note will ensure that the submission is processed immediately.

The final published paper will be no more than 5 printed pages (approximately 15 Word file pages). A *JAS* Section Editor handles the review and outcome is to accept or reject the paper. The reviews will generally be complete by 2 weeks and if accepted, added to the First Look page within 2 days and placed in the next available journal issue. If significant revisions are needed, the Section Editor will reject the manuscript and require a new submission. Generally there will not be a revision. All papers are subject to the \$100 submission fee (applied towards publication if accepted). The manuscript will be published **Open Access** and the fee for publication of this rapid format

will be \$1,000 (members) and \$2,000 (nonmembers).

Technical Notes. A technical note is used to report a new method, technique, or procedure of interest to *JAS* readers. When possible, a technical note should include a comparison of results from the new method with those from previous methods, using appropriate statistical tests. The advantages and disadvantages of the new procedure should be discussed. When typeset for publication, a technical note shall not exceed 10 pages (approximately 18 Microsoft Word document pages), including tables and figures. “Technical note:” shall be the first portion of the title of such manuscripts. The review process for a technical note will be the same as that for other manuscripts. Information that is more extensive or detailed than necessary for a Technical note may be presented in an e-supplement (see **E-Supplements**). Short communications, brief communications, and similar types of articles will not be considered for publication in *JAS*.

Letters to the Editor. A letter judged suitable for publication will be printed in a “Letters to the Editor” section of *JAS*. The purpose of this section is to provide a forum for scientific exchange relating to articles published in *JAS*. To be acceptable for publication, a letter must adhere to the following guidelines. 1) Only a letter that addresses matters of science and relates to information published in *JAS* will be considered. In general, a letter should not exceed 5,000 keystrokes and should contain no more than 5 citations. 2) A letter should provide supporting evidence based on published data for the points made or must develop logical scientific hypotheses. A letter based on conjecture or unsubstantiated claims will not normally be published. No new data may be presented in a letter. 3) The Editor-in-Chief will evaluate each letter and determine whether a letter is appropriate for publication. If a letter is considered appropriate, the author(s) of original *JAS* article(s) will be invited to write a letter of response. Normally both letters will be published together. 4) All letters will be

subject to acceptance and editing by the Editor-in-Chief and editing by a technical editor.

SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

Manuscripts should be submitted electronically through ScholarOne Manuscripts at <http://mc.manuscriptcentral.com/jas>.

Authors with questions about using the electronic manuscript submission system or, for technological reasons, are unable to submit manuscripts electronically may contact Lauren Van Driel (lvandriel@sciencesocieties.org).

Please note: in 2016, *JAS* instituted a submission fee equivalent to the page charges for one page at the membership rate. The submission fee must be paid at the time of submission, but will be credited towards total page charge fee if the article is published. **Please note:** the submission fee is not refundable if the article is rejected.

Section titles

Each author will be prompted to choose a section for grouping articles within the table of contents.

1. Animal Behavior and Cognition
2. Animal Genetics and Genomics
3. Animal Health and Well Being
4. Animal Models
5. Arid Land Animal Production
6. Cell and Molecular Biology
7. Companion Animal Biology
8. Companion Animal Nutrition
9. Dairy Products
10. Environmental Animal Science
11. Exercise Physiology

12. Feeds
13. Fetal Programming
14. Forage Based Livestock Systems
15. Gastrointestinal Biology
16. Growth Biology
17. Housing and Management
18. Immunology
19. Integrated Animal Science
20. Lactation and Mammary Gland Biology
21. Meat Science
22. Metabolism and Metabolomics
23. Microbiology
24. Microbiome
25. Molecular Nutrition
26. Muscle Biology
27. Neuroendocrinology
28. Non ruminant nutrition
29. Pasture and Grazing Lands
30. Proteomics
31. Reproduction
32. Ruminant Nutrition
33. Special Topics
34. Sustainable Animal Science and Practices
35. Symposia
36. Technology in Animal Science

37. Toxicology
38. Wildlife Management
39. Zoo and Exotic Animal Management and Nutrition
40. Board Invited Reviews

Copyright Agreement

Authors shall complete the Manuscript Submission and Copyright Release form for each new manuscript submission. The form is completed during the submission process through ScholarOne Manuscripts. Authors, such as United States government employees, who are unable to grant copyright to ASAS must indicate the reason for exemption on the form; material that was produced as an official duty of a U.S. Government employee is considered public domain. The American Society of Animal Science holds the copyright to material published in *JAS*. Persons who wish to reproduce material in *JAS* must request written permission to reprint copyrighted information from the Managing Editor, Ms. Emily Mueller (emueller@sciencesocieties.org). Likewise, authors of *JAS* manuscripts who include material (usually tables or figures) taken from other copyrighted sources must secure permission from the copyright holders and provide evidence of this permission at the time the manuscript is submitted to *JAS* for review. Tables or figures reproduced from the work of others, or data extracted from the work of others and used to construct summary tables (or figures) or for meta-analyses, must include an acknowledgement of the original source in a footnote or legend and, when appropriate, a complete citation in LITERATURE CITED. The ASAS, however, grants to the author(s) of *JAS* articles the right of repub-

lication in any book of which he or she is author or editor, subject only to his or her giving proper credit in the book to the original *JAS* publication of the article by ASAS.

REVIEW OF MANUSCRIPTS

General Procedures. The Editor-in-Chief, Associate Editor-in-Chief, and Section Editors determine whether manuscripts are suitable for publication in *JAS*. All communications about a submitted manuscript should maintain confidentiality. The Associate Editor-in-Chief and Section Editors handle correspondence with the peer reviewers and corresponding author and promptly decide whether a manuscript should be accepted, revised, or rejected. A Section Editor's decision to accept, invite revision, or reject a manuscript after peer review is based on peer-reviewer comments and recommendations and the Section Editor's own review of the manuscript. Section Editors forward documents for accepted and rejected manuscripts to the Editor-in-Chief. After acceptance, manuscripts are forwarded to the technical editors. The Editor-in-Chief is the final arbiter concerning acceptance or rejection of manuscripts submitted for publication.

Rejections. Manuscripts are rejected for 3 general reasons. 1) The substance of the manuscript may not meet *JAS* standards; the work may be incomplete, the evidence may not support the conclusions, the experimental approach may be poorly conceived, or the work may repeat established fact or represent no advancement of the existing knowledge. 2) Even though the work may be sound and the results valid, the paper may be better suited for publication elsewhere. 3) Manuscripts are not written clearly, concisely, and coherently, or they are not consistent with guidelines in the 2016 Instructions for Authors, *Journal of Animal Science*. These manuscripts may be rejected without review. Authors whose first language is not English are urged to have an editing service review their manuscripts before they are submitted to *JAS*. However, *JAS* considers the authors, and not an editing service, responsible for the content of manuscripts.

Appeals. If a manuscript is rejected, as a first course of action the author should discuss the matter with the Section Editor responsible for the manuscript. Decisions must be appealed to the Editor-

in-Chief if the author(s) believe(s) that the judgment was erroneous or biased. A letter presenting the reasons for the appeal should be sent to the Editor-in-Chief. The Editor-in-Chief will review the author's reasons, all documents related to the manuscript, and, if necessary, consult with the Section Editor responsible for the manuscript. The Editor-in-Chief will then decide whether to accept or deny the appeal.

Revisions. Most manuscripts that are eventually accepted for publication are returned to the author(s) at least once for revision. All revised manuscripts must be returned to Section Editors via *JAS ScholarOne Manuscripts*. Authors will be permitted 15 days to revise and return manuscripts classified as Minor Revision and permitted 35 days to revise and return manuscripts classified as Major Revision. ScholarOne Manuscripts prompts reviewers to classify manuscripts as Minor Revision or Major Revision.

Manuscripts that exceed the revision-option deadline will be withdrawn. Extenuating circumstances may justify the need to extend the revision-option deadline. Requests for extensions must be communicated to the Section Editor responsible for the manuscript before the revision-option expires. The Revision Checklist for Authors is sent with requests for revision (<http://www.animalsciencepublications.org/sites/publications/jas/jas-revision-checklist.pdf>). Authors should closely follow the Checklist.

PAPERS IN PRESS, AUTHOR PROOFS, AND PUBLICATION CHARGES

Papers in Press. To facilitate earlier disclosure of research results, accepted manuscripts will be assigned a digital object identifier (doi) and posted to the *JAS First Look* site (<http://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/first-look>) in the form in which they are accepted. The authors bear the primary responsibility for the content of manuscripts posted to

the Papers in Press site. Because articles posted to this site have not been professionally edited and typeset, and are frequently changed in response to questions from editors, they do not represent the final, published form of the manuscript. The date a complete monthly issue of *JAS* is posted online is the official publication date for *JAS* articles. However, the date on which a manuscript is posted to the *JAS Papers in Press* website may represent the official public disclosure date for the contents of the article. Authors concerned about intellectual property issues, such as patents and disclosure dates, should seek legal counsel before submitting manuscripts to a scientific journal.

Author Proofs. Accepted manuscripts are forwarded to the editorial office for technical editing and typesetting. During this process, the technical editor may add queries to ask the authors for missing information, to clarify points, or to update figures. The manuscript is then typeset, figures processed, and author proofs (also called galley proofs) prepared. Queries are included in the galley proofs. Correspondence concerning the accepted manuscript should be directed to the Managing Editor.

Proofs of all manuscripts will be provided to the corresponding author and should be read carefully and checked against the typed manuscript. Accuracy of the author proof is the sole responsibility of the author(s). Corrections may be returned by e-mail (preferred), or by fax if necessary. For faxed corrections, changes to the proof should be made neatly and clearly in the margins of the proof. Notes created with Adobe editing tools and pointing to specific locations for corrections are preferred. Changes e-mailed to the Managing Editor, if not noted directly on the Adobe PDF file, must indicate page, column, and line numbers for each correction to be made on the proof. Editor queries should be answered on the galley proofs; failure to do so may delay or prevent publication. Excessive author changes made at the proof stage may result in a \$250 surcharge for additional typesetting, and they may

be deemed so excessive that the manuscript will be returned to the Section Editor for additional scientific review.

Publication Charges and Reprints. The journal has 2 options available for publication: open access and conventional page charges. For the open access option, authors will pay the open access fee when proofs are returned to the editorial office so that their article will become freely available upon publication in an online issue of *JAS*. Charges for open access publication are \$2,500 per article if at least one author is a current professional member of ASAS; the charge is \$3,250 when no author is a professional ASAS member. For conventional publication, the charge is \$100 per printed page in *JAS* if at least one author is a professional ASAS member; the page charge is \$200 when no author is a professional member of ASAS. Reprints may be ordered at an additional charge.

Professional membership in ASAS is available to any person who has research, educational, commercial, or administrative responsibilities or interests in the broad disciplines within animal science. Complete details are available at the following website: www.asas.org/membership-services/member-information.

When the author proof is sent, the author is asked to complete a reprint order form requesting the number of reprints desired and the name of the institution, agency, or individual responsible for publication charges. Now that *JAS* is a fully electronic publication, there are no additional charges for color figures and images that appear in electronic issues of *JAS*. However, authors who order reprints are responsible for paying any additional charges for printing reprints that contain color.

STANDARD JAS ABBREVIATIONS

The following abbreviations should be used without definition in *JAS*. Plural abbreviations do not contain a final “s”

because the context of an abbreviation implies whether it is singular or plural. Use of the standard 3-letter abbreviations for amino acids (e.g., Ala) is acceptable in *JAS*. Use of the internationally recognized chemical symbols for chemical elements (e.g., P and S) is acceptable in *JAS*. Except for N (not italicized), which is the recognized abbreviation for nitrogen and newton (unit of force), chemical symbols for elements are reserved for elements (e.g., C is for carbon and never for control). For chemical units and abbreviations, refer to the ACS Style Guide (published by the American Chemical Society, Washington, DC).

Physical units

Item	Unit
Bq	becquerel
°C	degree Celsius
cal	calorie
Ci	curie
cM	centimorgan (spell out morgan if used r without a prefix)
Da	dalton
Eq	equivalent (only can be used with a prefix; R ² e.g., mEq)
g	gram
ha	hectare
Hz	hertz
IU	international unit
J	joule
L	liter
lx	lux
m	meter

<i>M</i>	molar (concentration; preferred over μ mol/L)	<i>F</i>	<i>F</i> -distribution (variance ratio)
mol	mole	LSD	least significant difference
N	newton (N not italicized)	<i>n</i>	sample size (used parenthetically or in footnotes; note italics)
<i>N</i>	normal (concentration)	P	probability
Pa	pascal	r	simple correlation coefficient
rpm	revolutions/minute (not to be used to indicate centrifugal force)	r^2	simple coefficient of determination
t	metric ton (1,000 kg)	R	multiple correlation coefficient
V	volt	R^2	multiple coefficient of determination
W	watt	s^2	variance (sample)
<i>Units of time</i>		SD	standard deviation (sample)
Item	Unit	SE	standard error
s	second	SED	standard error of the differences of means
min	minute	SEM	standard error of the mean
h	hour	<i>t</i>	<i>t</i> -(or Student) distribution
d	day	<i>a</i>	probability of Type I error
wk	week	<i>β</i>	probability of Type II error
mo	month	μ	mean (population)
yr	year	σ	standard deviation (population)
<i>Statistical symbols and abbreviations</i>		σ^2	variance (population)
Item	Term	χ^2	chi-squared distribution
ANOVA	analysis of variance		
A			
CI	confidence interval	<i>Others</i>	
CV	coefficient of variation	Item	Term
df	degree(s) of freedom (spell out if used without units)	AA	amino acid(s)
		ACTH	adrenocorticotropic hormone

ADF	acid detergent fiber (assumed sequential unless designated otherwise)	CIE	International Commission on Illumination (Commission Internationale d'Eclairage)
ADFI	average daily feed intake (not to be confused with DMI)	CLA	conjugated linoleic acid
ADG	average daily gain	CoA	coenzyme A
ADIN	acid detergent insoluble nitrogen	Co-EDTA	cobalt ethylenediaminetetraacetate
ADL	acid detergent lignin	CP	crude protein ($N \times 6.25$)
ADP	adenosine diphosphate	D diam	dextro-diameter
AI	artificial insemination	DE	digestible energy
AIA	acid insoluble ash	DEAE	(dimethylamino)ethyl (as in DEAE-L cellulose)
ARS	Agricultural Research Service	DFD	dark, rm, and dry (meat)
ATP	adenosine triphosphate	DM	dry matter
avg	average (use only in tables, not in the text)	DMI	dry matter intake
BCS	body condition score	DNA	deoxyribonucleic acid
BLUE	best linear unbiased estimate	EBV	estimated breeding value(s)
BLUP	best linear unbiased prediction	eCG	equine chorionic gonadotropin
bp	base pair	EDTA	ethylenediaminetetraacetic acid
BSA	bovine serum albumin	EFA	essential fatty acid
BTAA	<i>Bos taurus</i> chromosome	EIA	enzymeimmunoassay
BW	body weight (used for live weight)	ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
cDNA	complementary deoxyribonucleic acid	EPD	expected progeny difference(s)
C/EBP	CAAT-enhancer binding protein	Eq.	Equation(s)
cfu	colony-forming unit	Exp.	experiment (always followed by a numeral)

FFA	free fatty acid(s)	IGFBP	insulin-like growth factor-binding protein(s)
FSH	follicle-stimulating hormone	IL	interleukin
GEBV	genomic estimated breeding value(s)	IVDM	in vitro dry matter
<i>g</i>	gravity	D kb	disappearance kilobase(s)
GE	gross energy	KPH	kidney, pelvic, heart fat
G:F	gain-to-feed ratio	LLD ₅₀	levo-lethal dose 50%
GLC	gas-liquid chromatography	LH	luteinizing hormone
GLM	general linear model	LHRH	luteinizing hormone-releasing hormone
GnRH	gonadotropin-releasing hormone	LM	longissimus muscle
GH	growth hormone	ME	metabolizable energy
GHRH	growth hormone-releasing hormone	MP	metabolizable protein
<i>h</i> ²	heritability	mRNA	messenger ribonucleic acid
i.m.	intramuscular	MUFA	monounsaturated fatty acid
i.p.	intraperitoneal	NAD	nicotinamide adenine dinucleotide
i.v.	intravenous	NADH	reduced form of NAD
hCG	human chorionic gonadotropin	NDF	neutral detergent fiber
HCW	hot carcass weight	NDIN	neutral detergent insoluble nitrogen
HEPE	<i>N</i> -(2-hydroxyethyl)piperazine- <i>N'</i> -ethanesulfonic acid	NE	net energy
S		NE _g	net energy for gain
HPLC	high-performance (pressure) liquid chromatography	NE _l	net energy for lactation
i.d.	inside diameter	NE _m	net energy for maintenance
Ig	immunoglobulin (when used to identify a specific immunoglobulin)	NEFA	nonesterified fatty acid
IGF	insulin-like growth factor	No.	number (use only in tables, not in the text)
		NPN	nonprotein nitrogen

NRC	National Research Council	rRNA	ribosomal ribonucleic acid
o.d.	outside diameter	SAS	SAS Institute Inc. (no longer stands for Statistical Analysis System)
OIE	World Organisation for Animal Health (Office International des Epizooties)	s.c.	subcutaneous
OM	organic matter	SDS	sodium dodecyl sulfate
PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis	SFA	saturated fatty acid
PBS	phosphate-buffered saline	SNP	single nucleotide polymorphism spp. species ssp. subspecies
PCR	polymerase chain reaction	SSC	<i>Sus scrofa</i> chromosome
PG	prostaglandin	ST	somatotropin
PGF _{2α}	prostaglandin F _{2α}	TDN	total digestible nutrients
PMSG	pregnant mare's serum gonadotropin	TLC	thin layer chromatography
PPAR	peroxisome proliferator-activated receptor	Tris	tris(hydroxymethyl)aminomethane
PSE	pale, soft, and exudative (meat)	tRNA	transfer ribonucleic acid
PUFA	polyunsaturated fatty acid(s)	TSAA	total sulfur amino acids
QTL	Quantitative trait locus (loci)	USDA US	Department of Agriculture
RDP	ruminally degradable protein	UV	ultraviolet
REML	restricted maximum likelihood	VFA	volatile fatty acid(s)
RFLP	restriction fragment length polymorphism	vol	volume
RIA	radioimmunoassay	vol/vol	volume/volume (used only in parentheses)
	ribonucleic acid	vs.	versus
RNA		wt	weight (use only in tables, not in the text)
RQ	respiratory quotient	wt/vol	weight/volume (used only in parentheses)
RUP	ruminally undegradable protein		

wt/wt weight/weight (used only in parentheses)

LITERATURE CITED GUIDELINES FOR JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE

References in the Text. In the body of the manuscript, refer to authors as follows: Smith and Jones (1992) or Smith and Jones (1990, 1992). If the sentence structure requires the authors' names to be included in parentheses, the proper format is (Smith and Jones, 1982; Jones, 1988a,b; Jones et al., 1992, 1993). When there are more than 2 authors of an article, the first author's name is followed by the abbreviation et al. More than 1 article listed in the same sentence or parentheses must be in chronological order first and alphabetical order for 2 publications in the same year. Published, peer-reviewed articles, and not abstracts, should be cited. However, if authors originally described their work in a meeting abstract, proceedings paper, end-day report, or similar presentation and then expanded the information to produce a full-length manuscript, the authors should reference and cite those reports. If the work was someone else's and originally described in an abstract, proceedings paper, end-day report, or similar presentation, the authors should determine whether the work has been expanded and published as a peer-reviewed article, and then reference and cite the peer-reviewed article.

Work that has not been accepted for publication shall be listed in the text as "J. E. Jones (institution, city, and state or country, personal communication)." The author's own unpublished work should be listed in the text as "(J. Smith, unpublished data)." Personal communications and unpublished data must not be included in the Literature Cited section.

Literature Cited Section. To be listed in LITERATURE CITED, articles must be published or accepted for publication ("in press"). In-press citations should be

updated with complete information during revision or in the author proofs. In LITERATURE CITED, citations are listed alphabetically according to author(s) last name(s), and then chronologically. The year of publication follows author names. As with text references, 2 or more publications by the same author or set of authors in the same year shall be differentiated by adding lowercase letters after the date. With the exception of consortia, the names of all authors must appear in LITERATURE CITED. For consortia, authors may include, as an acknowledgement on the title page, a link to the website containing the names and locations of the members of the consortium, or they may include the names and locations of the members of the consortium in an appendix, but not in an acknowledgement on the title page. Journal names shall be abbreviated according to the conventional ISO abbreviations used by PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/journals>). One-word titles must be spelled out. Inclusive page numbers must be provided.

Sample references are as follows:

1. Books and articles within edited books:

AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.

NRC. 2000. Nutrient requirements of beef cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC. Robinson, P. H., E. K. Okine, and J. J. Kennelly. 1992.

Measurement of protein digestion in ruminants. In: S. Nissen, editor, Modern methods in protein nutrition and metabolism. Academic Press, San Diego, CA. p. 121–127.

2. Handbooks, technical bulletins, theses, and dissertations

Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents,

procedures, and some applications). Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, DC.

Shreck, A. L., C. D. Buckner, G. E. Erickson, and T. J. Klopfenstein. 2011. Digestibility of crop residues after chemical treatment and anaerobic storage. In: 2011 Nebraska Beef Cattle Report. Rep. No. MP94. Univ. of Nebraska, Lincoln. p. 35–36.

Sigma. 1984. Total hemoglobin: Quantitative, colorimetric determination in whole blood at 530–550 nm. Tech. Bull. No. 525. rev. ed. Sigma Chemical, St. Louis, MO.

Ward, J. D. 1995. Effects of copper deficiency on performance and immune function of cattle. PhD Diss. North Carolina State Univ., Raleigh.

3. Journal articles and abstracts

Centon, J. R., G. E. Erickson, T. J. Klopfenstein, K. J. Vander Pol, and M. A. Greenquist. 2007. Effects of roughage source and level in finishing diets containing wet distillers grains on feedlot performance. *J. Anim. Sci.* 85(Suppl. 2):76. (Abstract.) doi:10.2527/jas.2006-354 (NOTE: The doi is now considered part of a citation.)

Cleale, R. M., IV, R. A. Britton, T. J. Klopfenstein, M. L. Bauer, D. L. Harmon, and L. D. Satterlee. 1987a. Induced non-enzymatic browning of soybean meal. II. Ruminal escape and net portal absorption of soybean protein treated with xylose. *J. Anim. Sci.* 65:1319–1326. (NOTE: Articles published before circa 2005 may not have a doi.)

Perez, V. G., A. M. Waguespark, T. D. Bidner, L. L. Southern, T. M. Fakler, T. L. Ward, M. Steidinger, and J. E. Pettigrew. 2011. Additivity of effects from dietary copper and zinc on growth performance and fecal microbiota of pigs after weaning. *J. Anim. Sci.* 89:414–425. doi:10.2527/jas.2010-2839

Revidatti, M. A., J. V. Delgado Bermejo, L. T. Gama, V. Landi Periati, C. Ginja, L. A. Alvarez, J. L. Vega-Pla, A. M. Martínez, and BioPig Consortium. 2014. Genetic characterization of local Criollo pig breeds from the Americas using microsatellite markers. *J. Anim. Sci.* 92:4823–4832. doi:10.2527/jas.2014-7848

The Bovine Hap Map Consortium. 2009. Genome-wide survey of SNP variation uncovers the genetic structure of cattle breeds. *Science*. 324:528–532. doi:10.1126/science.1167936

4. Conference proceedings

Bailey, E. A., J. R. Jaeger, J. W. Waggoner, G. W. Preedy, L. A. Pacheco, and K. C. Olson. 2012. Effect of weaning method on welfare and performance of beef calves during receiving. *Proc. West. Sec. Amer. Soc. Anim. Sci.* 63:25–29.

NMC. 1995. Summary of peer-reviewed publications on efficacy of premilking and postmilking teat disinfections published since 1980. In: Natl. Mastitis Coun. Reg. Meet. Proc., Harrisburg, PA. Natl. Mastitis Coun., Arlington, VA. p. 82–92.

Talmant, A., X. Fernandez, P. Sellier, and G. Monin. 1989. Glycolytic potential in longissimus dorsi muscle of Large White pigs as measured after in vivo sampling. In: Proc. 35th Int. Congr. Meat Sci. Technol., Copenhagen, Denmark. p. 1129.

Van der Werf, J. H. J. 1990. A note on the use of conditional models to estimate additive genetic variance in selected populations. *Proc. 4th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.*, Edinburgh, Scotland XIII:476–479.

5. Electronic Publications

FDA. 2014. Approved animal drug products online (Green Book). <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/Products/ApprovedAnimalDrugProducts/default.htm> (Accessed 26 December 2014.)

Galyean, M. L. and P. J. Defoor. 2003. Effects of roughage source and level on intake by feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 81(E Suppl. 2):E8–E16.

Heaton, M. P., T. S. Kalbeisch, D. T. Petrik, B. Simpson, J. W. Kijas, M. L. Clawson, C. G. Chitko-McKown, G. P. Harhay, K. A. Leymaster, and the International Sheep Genomics Consortium. 2013. Genetic testing for TMEM154 mutations associated with lentivirus susceptibility in sheep. *PLoS ONE* 8(2): e55490. doi:10.1371/journal.pone.0055490

POLICIES REGARDING NUMBER USAGE FOR

JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE

Number usage in *JAS* is consistent with the *Scientific Style and Format: The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers*.

- All cardinal numbers are written as numerals except when they begin a sentence or appear in a title, when 2 numerals are adjacent in a sentence (spell out the number most easily expressed in words; e.g., two 10-kg samples), or when a number is used as a figure of speech.
- Numbers less than 1 are written with a preceding (leading) zero (e.g., 0.75).
- A comma separator is used in numbers greater than 999 (e.g., 1,234 and 1,234,567).
- Numerals should be used to designate ratios and multiplication factors (e.g., 2:1 and 3-fold increase).
- Statements such as “5 times less” should be avoided because “times” means multiplied by, and the product of a positive number (multiplicand) multiplied by 5, for example, is greater, not less, than the multiplicand. The opposite is true for a negative multiplicand, but the notion of “5 times less than –5,” for example, may be not be clear to readers.
- If a number is spelled out at the beginning of a sentence, its associated

unit is also spelled out (e.g., Ten microliters of uid . . . , not Ten μL of uid . . .).

- Units of measurement not associated with a number should be spelled out rather than abbreviated (e.g., lysine content was measured in milligrams per kilogram of diet) unless used parenthetically, as “lysine content (mg/kg of diet) was measured,” or in tables and figures.
- Single-digit ordinals are spelled out (i.e., first through ninth); larger ordinals are expressed in numeric form. Single-digit ordinals may be expressed numerically when they form part of a series (e.g., 1st, 3rd, 10th, 20th, not first, third, 10th, and 20th).
- Measures must be presented in the metric system (SI or Système International d’Unités; see <http://physics.nist.gov/cuu/Units/introduction.html>).
- When a term must be expressed in nonmetric units for clarity (e.g., bushel weight), show the nonmetric value in parentheses immediately after the metric value.
- Use “to” instead of a hyphen to indicate a numerical range in text (e.g., 1 to 10).

Avoid the use of multiplying factors (e.g., $\times 10^{-6}$) in table columns or rows, or in figure axis labels because of the uncertainty about whether the data are to be, or already have been, multiplied by the factor.

- Avoid ambiguity by stating units (e.g., numbers of spermatozoa, millions/mL).
- Do not use more than one slant line (for “per”) in a single expression; for example, use $5 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$ or $5 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ instead of 5 mg/g/d . Mathematically, “per” implies division; when 2 “per” occur consecutively, it is unclear precisely what is being divided by what.
- Dietary energy may be expressed in calories or in joules, although joule is the standard SI unit for energy.

- Hyphenate units of measure used as preceding adjectives (e.g., 5-kg sample). Hyphens are not used with percent or degree signs.
- Insert spaces around all signs (except slant lines) of operation when these signs occur between 2 values(e.g., 10 ± 1 ; $5<10$; $2+2=4$).
- Convert “mg %” to other units, such as mg/L or mg/mL.
- Use “mol/100 mol” rather than “molar percent.”.

VITA

Bruna Cristina Kuhn Gomes, filha de Wanderlei Maciel Gomes e Filomena Kuhn Gomes, nasceu em 23 de junho de 1989, Cerro Largo, Rio Grande do Sul.

Ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Rio Grande do Sul, no segundo semestre de 2008.

Ao longo da graduação realizou estágios com clínica de bovinocultura de leite, equinos, suíños e cães e gatos. Participou de 2010 a 2012 do grupo de pesquisa e extensão em pequenos animais sob orientação da professora Dra. Márcia Nobre. Em 2012 ingressou no grupo de pesquisa em aves e suíños sob orientação do professor Dr. Eduardo Gonçalves Xavier da UFPEL, onde foi monitora da disciplina de Zootecnia de suíños.

No segundo semestre de 2013 realizou estágio extracurricular na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Aves e Suínos em Concórdia, SC, sob orientação do pesquisador Dr. Gustavo Monteiro Mello de Lima. Graduou-se como Médica Veterinária em fevereiro de 2014 pela UFPEL.

Em abril de 2014 deu início ao curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), na área de Nutrição de Não Ruminantes, com ênfase em Nutrição de Suíños. Obteve o título de Mestre em Ciência Animal em março de 2016 com a defesa da dissertação intitulada “Probióticos para suíños nas fases de maternidade e creche” sob orientação do Profº Dr. Eduardo Gonçalves Xavier e co orientação do pesquisador Dr. Gustavo Monteiro Mello de Lima.

Em abril de 2016, ingressou no Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFRGS sob orientação do Professor Dr. Luciano Trevizan. Realizou doutorado sanduíche, no período de maio de 2018 até agosto de 2018, junto ao Centro de Pesquisa Agri Food (Agriculture and Agri Food) no Canadá, sob orientação do pesquisador Dr. Cândido Pomar.