

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS JABOTICABAL**

**USO DE EXTRATOS DE TANINOS EM SUPLEMENTOS COM
DIFERENTES NÍVEIS DE INCLUSÃO DE UREIA NA RECRIA
DE BOVINOS NELORE NO PERÍODO DA SECA**

**Iorrano Andrade Cidrini
Zootecnista**

2019

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS JABOTICABAL**

**USO DE EXTRATOS DE TANINOS EM SUPLEMENTOS COM
DIFERENTES NÍVEIS DE INCLUSÃO DE UREIA NA RECRIA
DE BOVINOS NELORE NO PERÍODO DA SECA**

Discente: Iorrano Andrade Cidrini

Orientador: Prof. Dr. Flávio Dutra de Resende

Co-Orientadora: Dra. Laura Franco Prados

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Cidrini, Iorrano Andrade

Uso de extratos de taninos em suplementos com diferentes níveis de inclusão de ureia na recria de bovinos nelore no período da seca / Iorrano Andrade Cidrini. -- Jaboticabal, 2019

99 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Flávio Dutra de Resende

Coorientadora: Laura Franco Prados

Bibliografia

1. Zootecnia. 2. Produção animal. 3. Nutrição de ruminantes. 4. Suplementação. 5. Aditivos. I. Título.

C568u

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada


CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: USO DE EXTRATOS DE TANINOS EM SUPLEMENTOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE INCLUSÃO DE UREIA NA RECRIA DE BOVINOS NELORE NO PERÍODO DA SECA

AUTOR: IORRANO ANDRADE CIDRINI
ORIENTADOR: FLÁVIO DUTRA DE RESENDE
COORIENTADORA: LAURA FRANCO PRADOS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:


Pesquisador Dr. FLÁVIO DUTRA DE RESENDE
Departamento de Descentralização do Desenvolvimento / APTA - Colina/SP


Prof. Dr. GABRIEL RIBEIRO JUNIOR (Videoconferência)
Department of Production Animal Health/University Dr. NW Calgary / Alberta/Canadá


Pós-doutoranda YURY/TATIANA GRANJA SALCEDO
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 22 de julho de 2019

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Iorrano Andrade Cidrini, nascido em 26 de junho de 1992, Muriaé, Minas Gerais. Filho de Miria Lacerda de Andrade e Antônio Ferdinando de Oliveira Cidrini, professora e produtor rural, respectivamente. Possui graduação em Zootecnia (2012 - 2016), pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais, Campus Rio Pomba. Atuando no grupo SEZOO, sob orientação do professor Dr. Valdir Botega Tavares (2013 – 2016) e em iniciações científicas sob orientação dos professores Dr. Onofre Barroca de Almeida Neto (2013-2015) e Dr. Arnaldo Prata Neiva Júnior (2016). Em 2016 desenvolveu o estágio curricular na Embrapa Gado de Leite, Campo Experimental Coronel Pacheco - Minas Gerais, sob orientação dos professores Dr. Cristiano Gonzaga Jayme e Dr. Luiz Gustavo Pereira Ribeiro. Em fevereiro de 2017 ingressou no mestrado pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Jaboticabal – São Paulo, no programa de pós-graduação em Zootecnia sob orientação do Dr. Flávio Dutra de Resende. Onde participou por seis meses, com início em novembro de 2018, de um intercâmbio (BEPE), atuando como pesquisador visitante no *Lethbridge Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC)*, sob orientação da Dra. Karen Beauchemin.

“Bons mestres ensinam a aprender”

Autor desconhecido

“Busque fatos, conteste versões”

Autor desconhecido

Dedico...

*A Deus, aos mentores amigos
e à minha família!*

*Aos meus orientadores e co-orientadores, pelos ensinamentos e inspiração.
Às grandes e valorosas amizades conquistadas ao longo dessa trajetória, foram
fundamentais...*

*...a vocês, **ofereço!***

AGRADECIMENTOS

À Deus, a minha mãe Miria, professora de ensino fundamental, e meu pai Ferdinando, pequeno produtor rural, classes/profissões “valorizadas” atualmente, que me ensinaram “como a aprender”. Meu irmão Fernando e minha tia Eloína, sempre dispostos a ajudar em qualquer momento. Meus avós e através deles, toda minha família, que apesar da simplicidade, me ensinaram os princípios morais e, além disso, a importância do trabalho, isso foi o necessário para seguir com minha jornada, que de fato apenas se inicia.

Aos meus orientadores, professores Flávio Dutra de Resende e Gustavo Rezende Siqueira, que além de exemplos, me estenderam a mão e ofertaram tudo que fosse necessário para meu desenvolvimento. Gratidão a vocês!

À Universidade Estadual Paulista por me proporcionar condições para o desenvolvimento do Mestrado e a Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, que proporcionou toda estrutura necessária para o desenvolvimento do projeto de pesquisa.

Aos amigos, que sempre estiveram ao meu lado, dando suporte. Não citarei seus nomes, pois são diversos, mas quando lerem saberão que vos falo.

Aos pós-docs que muito contribuíram para a concepção, realização e interpretações dos resultados experimentais, Laura, Yury, Ivanna, Amélia, Naiara e Abmael.

Aos integrantes da pós-graduação da APTA, Renan, Felipe, Danubia, Jéssica, Paloma, Beatriz, Verônica, Leticia, Cleisy, Aline, Val, Max e Luiz, obrigado por tudo.

Um agradecimento especial também a todos àqueles que passaram pela APTA e puderam contribuir com meu desenvolvimento profissional, Dario, Wendell, Jessica, Antônio, Jennifer, Marcos, Kyone e todos os outros, que eventualmente não foram citados. Além deles, os amigos feitos na Unesp Jaboticabal, Diego, Kênia, Marina e através deles todos os outros, incluindo a Juliana, por todo apoio.

Aos estagiários bolsistas e passageiros da APTA, Eduarda, Willian, Maria Jaqueline, Rebeca, Hugo, Benjamin, William Luiz, Henrique, Luciana e Carol, pela ajuda fundamental durante todas as fases do experimento!

Aos funcionários da APTA, Toizinho, Lori, Seu João, Seu Alcino, Chico, Nandi, Deley, Roberto, Luiz, Suelli, Flora, Néia, Juninho, Antônio Carlos, Tim, Miltinho e todos os outros, sempre dispostos a ajudar. Além desses, especialmente a Regina, por toda a ajuda em compras e equipamentos e também ao Rodolfo Toga, pela paciência, ensinamentos e ajuda no laboratório.

Não poderia deixar de agradecer também a Dra. Karen Beauchemin e a todos do Lethbridge Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada (AAFC), no qual fui muito bem recebido. Foi um período de intenso aprendizado. Gostaria de deixar um agradecimento especial ao funcionário da recepção do consulado canadense em São Paulo, sua bondade mudou minha vida, jamais me esquecerei!

Ào Marcelo Manella e através dele toda a equipe SilvaFeed, por parte do apoio financeiro e confiança em relação a condução do experimento.

Ao outorgante, processo 2018/00885-6, Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (Capes) – Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	IV
RESUMO.....	V
ABSTRACT.....	VI
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	4
3. HIPÓTESE	4
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
4.1 Uso diferido de pastagens: minimizando entraves quantitativos e estruturais do pasto no período da seca	4
4.2 Suplementação na seca: corrigindo os entraves nutricionais do pasto e ajustando o desempenho à meta	11
4.3 Composição dos suplementos: a ureia e suas peculiaridades.....	17
4.4 Agentes promotores da fermentação ruminal e alguns de seus substratos preferenciais	21
4.5 Taninos e seu potencial como aditivos em suplementos para o período seco	24
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
6. RESULTADOS.....	42
7. DISCUSSÃO	58
8. CONCLUSÃO	63
9. REFERÊNCIAS.....	63

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "**Utilização de tanino em suplementos com diferentes taxas de degradação como modulador do desempenho e da fermentação ruminal na recria de bovinos Nelore no período da seca**", protocolo nº 006468/17, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Flávio Dutra de Resende, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 04 de maio de 2017.

Vigência do Projeto	01/07/2017 a 10/11/2017
Espécie / Linhagem	Bovinos da raça Nelore
Nº de animais	74
Peso / Idade	312 Kg
Sexo	Machos
Origem	APTA Regional – Colina- SP

Jaboticabal, 04 de maio de 2017.


Prof.ª Dr.ª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

USO DE EXTRATOS DE TANINOS EM SUPLEMENTOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE INCLUSÃO DE UREIA NA RECRIA DE BOVINOS NELORE NO PERÍODO DA SECA

RESUMO – O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da suplementação de extrato de taninos (ET) e a inclusão de diferentes níveis de ureia na alimentação de bovinos Nelores na fase de crescimento durante o período da seca. A área de pastejo era formada por forrageira *Urochloa brizantha* cv. Marandu (PB = 5,9% e FDN = 74,8%). Os suplementos proteico energéticos eram ofertados, diariamente, na quantidade de 3 g/kg PC (PB = 26%). O arranjo dos tratamentos foi em fatorial 2 × 2: Fator 1 - baixa (3%) e alta (5%) de inclusão de ureia; Fator 2 - inclusão ou não de ET (0,7 g/kg MS de suplemento; SilvaFeed ByPro®). No primeiro experimento (n = 8, 293 kg ± 5,6 duplo quadrado latino), foi observada tendência de aumento da digestibilidade da PB com a inclusão de ET (P = 0,06). A alta ureia no suplemento promoveu uma tendência de aumento da ureia sérica nas primeiras horas após a suplementação (P = 0,08). Além disso, o tratamento com ureia interagiu com o tempo para N-NH₃ no rúmen (P < 0,01), sendo maior às 6 horas pós-suplementação para alta ureia. O ET aumentou a riqueza e reduziu a diversidade bacteriana. A análise de componentes principais indicou que a variação da microbiota ocorreu principalmente em função das diferentes inclusões de ureia nos suplementos. No segundo experimento, [n = 64, 294 kg ± 15,2, delineamento em blocos casualizados, blocagem por peso corporal (PC)], verificou-se que o desempenho não foi influenciado pelos tratamentos (P ≥ 0,21). Em conclusão, o desempenho e os parâmetros digestivos não foram afetados pela maior inclusão de ureia no período seco e os ET não foram capazes de aumentar o desempenho isoladamente.

PALAVRAS-CHAVE: Aditivos, metabólitos séricos, microbiota ruminal, suplementação proteica.

USE OF TANNINS EXTRACTS IN SUPPLEMENTS WITH DIFFERENT UREA INCLUSION LEVELS FOR GROWING NELLORE CATTLE IN THE DRY SEASON

ABSTRACT – The aim of this study was to evaluate the effect of tannins extracts (ET) supplementation and different levels of urea inclusion in Nellore cattle feed in the growing phase during the dry season. The grazing area was constituted by *Urochloa brizantha* cv. Marandu (CP = 5.9% and NDF = 74.8%). The energy protein supplements were offered daily in the amount of 3 g/kg BW (CP = 26%). The treatment arrangement was in factorial 2 × 2: Factor 1 - low (3%) and high (5%) inclusion of urea; Factor 2 – With or without inclusion of ET (0.7 g / kg MS of supplement, SilvaFeed ByPro®). In the first experiment (n = 8, 293 kg ± 5.6 double latin square), a trend of increased digestibility of PB was observed with the inclusion of ET (P = 0.06). High supplemental urea promoted a tendency for serum urea to increase in the first hours after supplementation (P = 0.08). In addition, treatment with urea interacted with time for N-NH₃ in the rumen (P <0.01), being greater at 6 hours post-supplementation for high urea. ET increased richness and reduced bacterial diversity. Principal component analysis indicated that microbiota variation occurred mainly due to the different urea inclusions in the supplements. In the second experiment, [n = 64, 294 kg ± 15.2, randomized block design, blocking by body weight (PC)], it was found that performance was not influenced by treatments (P ≥ 0.21). In conclusion, performance and digestive parameters were not affected by higher urea inclusion in the dry period and ET were not able to increase performance alone.

KEYWORDS: Additives, serum metabolites, rumen microbiota, protein supplementation.

1. INTRODUÇÃO

A pecuária de corte no Brasil sofreu grandes alterações após a década de 90, com redução contínua das margens de lucratividade e elevação da competitividade no mercado devido à estabilização da moeda. Invernistas observavam margens de lucratividade que chegavam a 50% anteriormente ao plano real, oscilando entre 12 e 20% nos dias de hoje (Nogueira, 2018). Assim, para a manutenção do lucro é fundamental que se incremente a produtividade.

Por se iniciar no período seco e ocorrer exclusivamente em pastagens na maioria dos sistemas brasileiros, a recria seja talvez a mais desafiadora dentre as fases de produção em sistemas intensivos. Dividindo-se basicamente em dois períodos distintos, sendo eles: o período seco, caracterizado pela limitação da produção, bem como comprometimento da estrutura e composição química da forragem (baixo teor de proteína e alto teor de fibra), resultando em desempenho animal reduzido ou mesmo perda de peso, em alguns casos; e período das águas, marcado por melhores condições para crescimento das plantas, porém com variação na composição química da forragem disponível ao longo do período, uma vez que o crescimento é influenciado pelo regime e distribuição das chuvas (Detmann et al., 2010).

Em fazendas de recria, os animais recém-adquiridos se deparam com pastos de baixo valor nutritivo e estrutura prejudicada, sendo eles bezerros recém-desmamados ou mesmo garrotes, explorando oportunidade de compra e menor ágio (37,7% vs. 13,9%, Scot Consultoria). Por isso, é fundamental que se utilize técnicas como o diferimento do uso das pastagens, deslocando parcialmente a forragem produzida no final do período das águas para uso nos 150 dias iniciais da recria (seca) e, minimizando assim, os entraves quantitativos, estruturais e nutricionais do pasto (Santos et al., 2018).

Para o período são preconizados ganhos entre uma e duas arrobas, para que se inicie o abatimento do ágio pago e demais custos de produção, além de contribuir para a redução das elevadas metas de desempenho no período subsequente, as águas (Fernandes et al., 2018). Porém, em função das limitações do pasto na seca,

a meta produtiva dificilmente é atingida sem o uso da suplementação dos animais, sendo esta uma estratégia de retorno financeiro elevado, visto que seus efeitos são predominantemente aditivos em relação ao consumo de energia digestível, explorando o ganho latente a partir da forragem ofertada no período em questão (Zervoudakis et al., 2011).

Destaca-se ainda, que o ganho adicional dos animais suplementados é relacionado com o nível de suplementação ofertado (Moore et al., 1999). Sendo que, o ganho absoluto é determinado pelo somatório dos adicionais equivalentes ao nível de suplementação adotado e o desempenho potencial obtido no pasto sem suplementação, sendo este último determinado pelos aspectos nutritivos e estruturais do pasto, enfatizando a necessidade de se adotar um manejo adequado no diferimento do pasto (Fernandes et al., 2018).

Adicionalmente, a composição do suplemento é um fator que merece destaque pela influência no desempenho animal. Visto que os suplementos na seca visam corrigir primariamente as deficiências globais de proteína, a composição da mesma é de suma importância, pois é um componente de custo elevado (Detmann et al., 2014). Por isso, a adição de ureia nos suplementos é uma estratégia interessante, explorando a habilidade que os microrganismos ruminais possuem de transformar fontes de nitrogênio não proteico (NNP) em proteína verdadeira, uma vez que bactérias degradadoras de carboidratos fibrosos utilizam amônia (NH_3), predominantemente, para crescimento e produção de enzimas fibrolíticas (Russell et al., 1992; Detmann et al., 2009).

A ureia é um dos principais reguladores de consumo dos suplementos, pois possui elevadas taxas de degradação no rúmen e o excesso de N-NH_3 gerado pela sua fermentação é absorvido pelo epitélio ruminal (Detmann et al., 2007). Embora essa N-NH_3 seja transformada em ureia no fígado e parte direcionada para a reciclagem e reaproveitamento no rumen, quando em excesso, poderá passar intacta pelo fígado, causando intoxicações subagudas, aumentando perdas de nitrogênio, reduzindo o desempenho e, conseqüentemente, através de “reflexos negativos condicionados” fará com que os animais restrinjam o consumo de suplemento ou alterem o padrão de ingestão do mesmo (Kertz et al., 1982; Visek, 1984). Assim, melhores resultados econômicos são obtidos com suplementos

possuindo relações entre 1/3 e 1/2 de equivalentes proteicos oriundos de fontes de NNP, reduzindo custos sem comprometimento do desempenho animal no período da seca, para suplementos de baixo consumo (Costa et al., 2011; Fernandes et al., 2016).

Devido à afinidade que possuem com proteínas, os extratos de taninos surgem como potencial aditivo (baixas concentrações) para utilização em suplementos de seca com elevados níveis de inclusão de ureia. Uma vez que sua capacidade de manipular a fermentação ruminal por inibição de bactérias gram positivas e degradadoras de proteínas, peptídeos e aminoácidos, além da formação de complexos com os mesmos, reduz a velocidade de liberação do N-NH₃ oriundo de proteína verdadeira no rúmen (Manella e Cidrini, 2018). Isso faz com que o pool de N-NH₃ seja suavizado, reduzindo possíveis efeitos adversos da maior inclusão de ureia.

Taninos são classificados em dois grupos, hidrolisáveis (TH) e não hidrolisáveis (condensados; TC) no rúmen, sendo reconhecidos durante um longo tempo apenas por proporcionarem redução de consumo e digestibilidade de nutrientes (Patra e Saxena, 2010). Porém, atualmente sabe-se que esses efeitos se dão apenas acima de 2 a 6% de concentração na matéria seca (MS), onde diversos estudos apontam que em baixas concentrações (1,5% abaixo), sobretudo em conjunto (TC + TH), possuem a habilidade de reduzir o *pool* de N-NH₃ no rúmen, alterar a rota de excreção do nitrogênio, aumentar a proteína metabolizável (PM) das dietas e conseqüentemente o desempenho (Mezzomo et al., 2011; Oliveira et al., 2015; Aboagye et al., 2018).

Em função de suas características, como redução da contribuição para o *pool* de N-NH₃ pela proteína verdadeira, é possível que extratos de taninos possam flexibilizar a inclusão de ureia em suplementos, viabilizando seu uso como aditivos pela redução do custo alimentar sem alterar o desempenho.

2. OBJETIVO

Avaliar o uso de extratos de taninos (SilvaFeed ByPro[®]) em suplementos proteico-energéticos com diferentes níveis de inclusão de ureia sob o consumo e digestibilidade, parâmetros ruminais e sanguíneos, a microbiota ruminal e o desempenho de animais Nelore no período da seca.

3. HIPÓTESE

A substituição de cerca de 50% da proteína oriunda do farelo de soja por ureia, passando de três (baixa ureia) para cinco (alta ureia) pontos percentuais de inclusão, em suplementos proteico energéticos ofertados na quantidade de 3 g/kg de peso corporal e 26% de proteína bruta, irá comprometer o desempenho dos animais no período seco. No entanto, a inclusão de extratos de taninos (SilvaFeed ByPro[®]), como aditivo, irá manipular a microbiota ruminal e favorecer a formação de complexos com as frações proteicas de rápida degradação, suavizar o pico de degradação da proteína verdadeira, minimizando os impactos das maiores inclusões de ureia no suplemento e mantendo o desempenho dos animais.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Uso diferido de pastagens: minimizando entraves quantitativos e estruturais do pasto no período da seca

As estações se diferem em termos de condições climáticas, podendo haver deficiência de determinados fatores de crescimento vegetal, acarretando no fenômeno conhecido como estacionalidade da produção (Valente et al., 2011). Na região centro-oeste do Brasil, cerca de 80% da produção vegetal ocorre no período

chuvoso do ano, com ocorrência do período seco entre os meses de abril e setembro (Figura 1).

Para se praticar uma pecuária intensiva, baseando-se no uso de pastagens, é necessário adotar estratégias visando minimizar o déficit produtivo no período seco do ano (Figura 2 - A). Dentre as possibilidades, destaca-se o diferimento do uso de pastagens, técnica que possibilita o deslocamento parcial da produção no final das águas, através da vedação de determinadas áreas, para o uso no período de escassez (Santos et al., 2018).

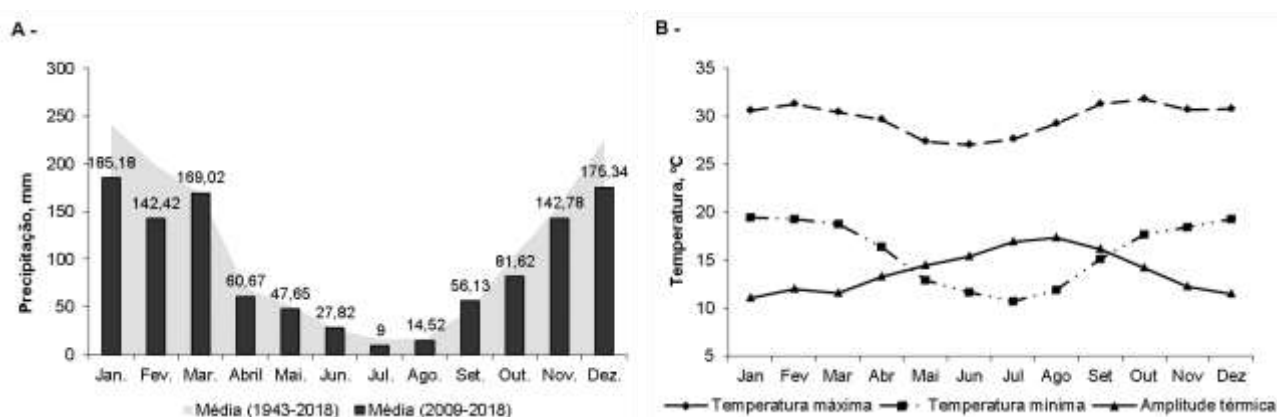


Figura 1 – A) Precipitação média ao longo dos meses do ano nos períodos de 1943-2018 e 2009-2018. **B)** Temperatura máxima, mínima e amplitude térmica média no período de 2009-2018. Dados: Estação meteorológica da APTA – Colina, SP (Polo Alta Mogiana).

No entanto, para que se discutam os aspectos envolvidos no uso diferido de pastagens, é necessário anteriormente compreender os fatores relacionados às respostas das plantas a desfolhação, onde pastos em determinada faixa de condição (alturas), mantidas em equilíbrio dinâmico da taxa de acúmulo através de lotação contínua e taxa de lotação variável, apresentam equilíbrio entre os processos de crescimento, senescência e acúmulo líquido (Figura 2 – B; Sbrissia, 2004). A máxima produção de material vivo pastejável é obtida em índice de área foliar (IAF) abaixo do ótimo para produção de biomassa (Parsons e Penning, 1988).

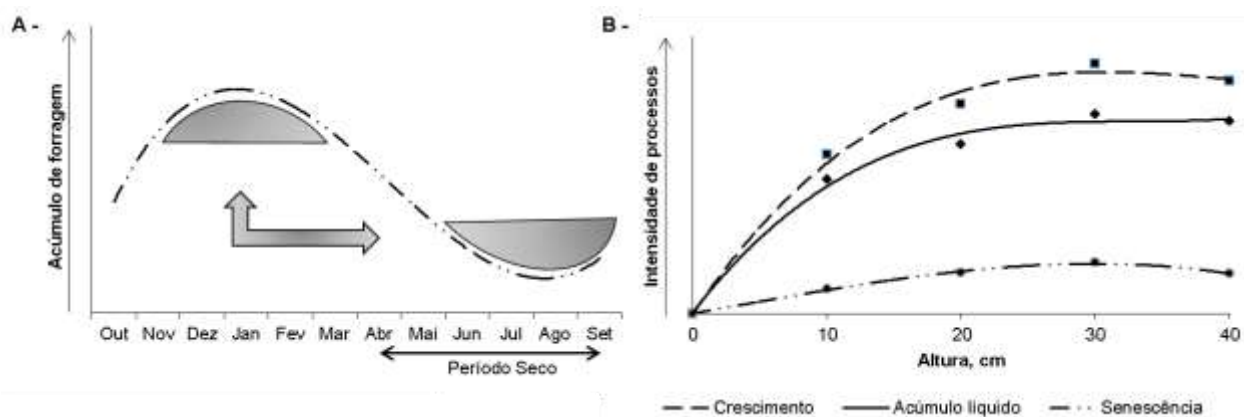


Figura 2 – A) Representação esquemática de técnicas que possibilitem o deslocamento do excedente produtivo para períodos de déficit produtivo. Adaptado de Carnevalli (2003). **B)** Equilíbrio entre processos (20 a 40 cm de altura) e dinâmica do acúmulo de forragem em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu mantidos em equilíbrio dinâmico sob lotação contínua e taxa de lotação variável durante o período de janeiro a março de 2002. Adaptado de Sbrissia (2004).

Assim, após a remoção dos animais da área a ser diferida, a produção líquida se eleva até que se atinjam condições de restrição ou limitação de luminosidade (acima de 95% de interceptação luminosa pelo dossel forrageiro). Isso desencadeia o início do alongamento de colmos, responsável pelo sombreamento e senescência de folhas basais, que resulta no aumento da proporção de hastes e material morto na massa de forragem em pré-pastejo (Carnevalli, 2003).

Adicionalmente, a definição do momento ideal para iniciar a vedação é complexa, visto que variáveis climáticas impactam no crescimento do pasto vedado e possuem baixa acurácia na predição. Assim, em casos extremos, pode ocorrer déficit forrageiro para o período seco, ou ainda, o excesso de produção pode comprometer a estrutura do pasto pelo alongamento de colmo e tombamento (Santos et al., 2009a).

Para melhores resultados em pastagens diferidas, é necessário atenção a diversos detalhes quanto à realização da operação, sendo a escolha da forrageira adequada um dos primeiros pontos a se considerar. Recomendam-se forrageiras de porte baixo e colmos de menor diâmetro para minimizar os efeitos da estrutura prejudicada, assim como plantas de menores taxas de senescência e que não possuam florescimento tardio, o que limitaria o valor nutricional no momento do pastejo devido ao maior alongamento e proporção de colmo no dossel forrageiro

(Santos et al., 2009b). Destaca-se a utilização de gramíneas do gênero *Urochloa* (*U. decumbens*, *U. brizantha* cvs. Marandu, Piatã e Paiguás), que possuem características mais adequadas ao diferimento, em detrimento à gêneros como *Panicum* e o *Pennisetum*, de porte mais elevado e maior acúmulo de colmo, proporcionando estruturas prejudiciais ao consumo no período seco (Santos et al., 2018).

O período de diferimento e a altura inicial são variáveis que influenciam quantitativa e qualitativamente a massa disponível no momento de iniciar o pastejo (Santos et al., 2009b). Em um período de 79 dias de vedação, Afonso et al. (2018), observaram que pastos com alturas iniciais elevadas apresentam maior massa de forragem no momento de utilização (Figura 3). A estrutura do pasto fica comprometida em períodos prolongados, onde a participação de folhas (verdes e secas) na massa de forragem é superior para menores alturas iniciais, possibilitando maiores desempenhos em taxas de lotações semelhantes. Os autores recomendaram o rebaixamento da altura inicial a 15 cm para melhores desempenhos em pastos diferidos.

Isso ocorre, pois, o rebaixamento inicial promove uma maior remoção de material senescente, viabilizando a passagem da luminosidade à base do dossel forrageiro, resultando na brotação de novos perfilhos, redução do alongamento de colmos e aumento da densidade de perfilhos (Santos et al., 2013). Este fato relaciona-se também à compensação entre tamanho e densidade populacional dos perfilhos, onde se observa maiores densidades com menores perfilhos em pastagens manejadas em alturas inferiores e, ainda, propiciando maiores relações folha/colmo quando comparado a pastagens manejadas em alturas superiores (Sbrissia e Silva, 2008). Assim, a estrutura do pasto ou arranjo espacial dos componentes da parte aérea das plantas dentro da comunidade (Laca e Lemaire, 2000), se altera de maneira mais contundente quando em maiores períodos ou alturas iniciais de diferimento (Santos et al., 2009b; Afonso et al., 2018), impactando a dinâmica de consumo e, conseqüentemente, o desempenho dos animais em pastejo (Carvalho, 2005).

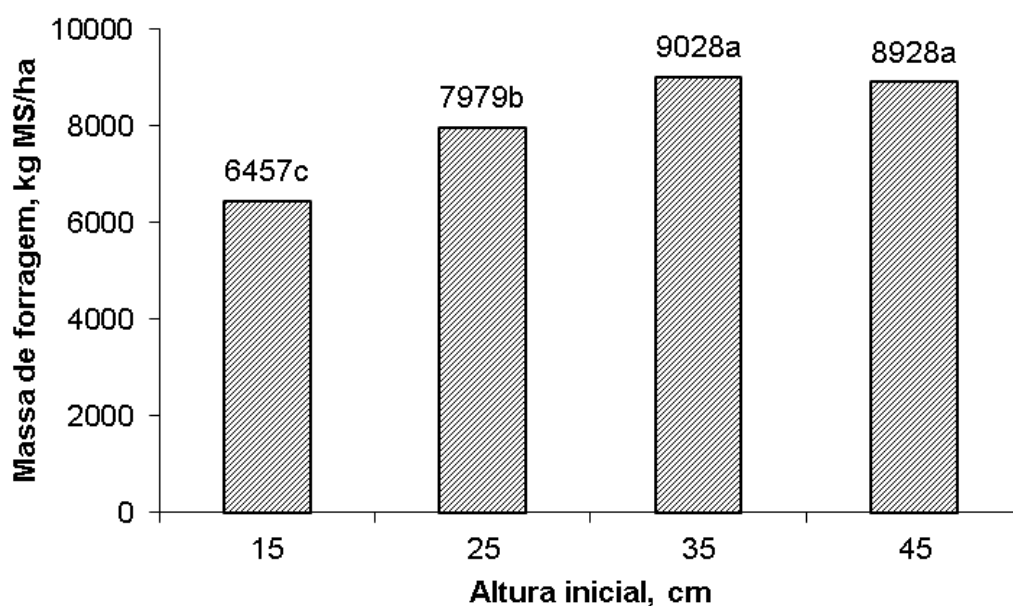


Figura 3 - Massa de forragem em pastagens diferidas com variação de altura do pasto no início do período de diferimento. Médias seguidas por letras diferentes diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Adaptado de Afonso et al. (2018).

Segundo Santos et al. (2016), os animais podem compensar parcialmente os efeitos deletérios à estrutura do pasto causados por maiores períodos de diferimento através da seleção dos componentes morfológicos. Os autores avaliaram as proporções dos componentes morfológicos em pastos diferidos por períodos crescentes, obtidos por amostragem do pasto disponível e por amostras de simulação de pastejo realizado por pessoas treinadas, onde se espera alta correção com o consumo real dos animais (Euclides et al., 1992). Em função da seleção dos animais, as amostras obtidas por pastejo simulado possuíam maior participação de folhas (verdes e mortas), embora com o aumento do período de diferimento a capacidade de seleção foi reduzida pelo comprometimento pronunciado da estrutura do pasto (Figura 4). Em função disso, menores períodos de diferimento são recomendados (Santos et al., 2010).

Utilizar as estratégias descritas anteriormente, garantindo uma oferta em valores próximos a 4550 kg de MS/ha, com boa participação de massa verde (1200 kg/ha de material verde seco), e oferta variando 10 a 12% do PC, garantem a possibilidade de seleção e maximizam o desempenho individual (Silva et al., 2009).

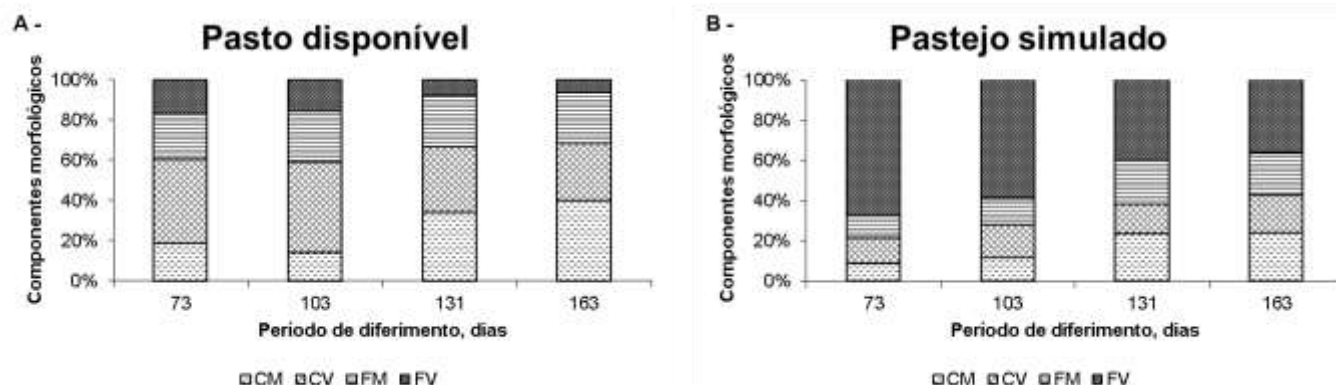


Figura 4 – Percentual dos componentes morfológicos na forragem disponível na pastagem (A) e na amostra obtida pela simulação de pastejo (B) com bovinos em pastagens de capim-brachiaria sob diferentes períodos de diferimento, onde CM = colmo morto, CV = colmo vivo, FM = folha morta, FV = folha viva. Adaptado de Santos et al. (2016).

Porém, pastos diferidos apresentam valor nutricional reduzido, pois a maturação dos tecidos vegetais promove o espessamento da parede celular secundária e conseqüentemente redução do conteúdo celular (Wilson, 1997). Santos et al. (2009c), avaliando o efeito de doses de nitrogênio em pastagens diferidas (0, 40, 80 e 120 kg/ha) obteve teores proteicos variando entre 2,86 e 5,97%, valores abaixo do limite inferior de 7% necessários para que atenda as exigências nutricionais dos microrganismos no rúmen (Van Soest, 1994). Em revisão de literatura sobre a suplementação de animais em pastos diferidos, Silva et al. (2009), verificaram que a composição bromatológica das *Urochloa* no período seco foi em média 74,5% de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN), 44,2% de fibra insolúvel me detergente ácido (FDA), 5,59% de PB e 51,4% de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), retificando que o valor nutricional no periodo fica comprometido.

Segundo o sistema Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS), proposto por Sniffen et al. (1992), a proteína presente nas forrageiras pode ser dividida em cinco frações distintas (A, B1, B2, B3 e C) e que a composição da mesma interfere na proteína metabolizável. O CNCPS assume ainda, que o desaparecimento da proteína no rúmen se dá através de uma relação da taxa de degradação (Kd) e taxa de passagem (Kp), onde o Kp é influenciado pelas características da dieta, do alimento e conseqüentemente pelo consumo dos

animais. A fração A é considerada 100% solúvel no rúmen (NNP), as frações B1, B2, B3 e C possuem, respectivamente, degradações rápidas (120 a 400%/h), intermediária (3 a 16%/h), lenta (0,06 a 0,55%/h) e porção indisponível. Assim como as proteínas, os carboidratos também podem ser divididos em diferentes frações que possuem Kd distintas entre elas (NASEM, 2016).

A relevância desse aspecto relaciona-se a redução substancial do conteúdo nitrogenado e de suas frações potencialmente degradáveis na forragem colhida pelo animal com a mudança da estação chuvosa para a estação seca em gramíneas tropicais (Vieira et al., 2000). Há redução da disponibilidade da proteína tanto para os microrganismos do rúmen quanto para o hospedeiro, particularmente em virtude do aumento na proporção da fração C (Figura 5). Velasquez et al. (2010), verificaram que no período de abril a junho, em estados fisiológicos mais avançados, há redução da digestibilidade do capim-marandu pela elevação da fração proteica ligada a parede celular (B3) e a fração indisponível (C), ligada a lignina, compostos fenólicos e aos produtos de Maillard. Ainda Velásquez et al. (2010), observaram redução da fração de nutrientes potencialmente digestíveis e da digestibilidade com o avanço da idade fisiológica das plantas, além do aumento da proporção de celulose, hemicelulose e lignina da planta.

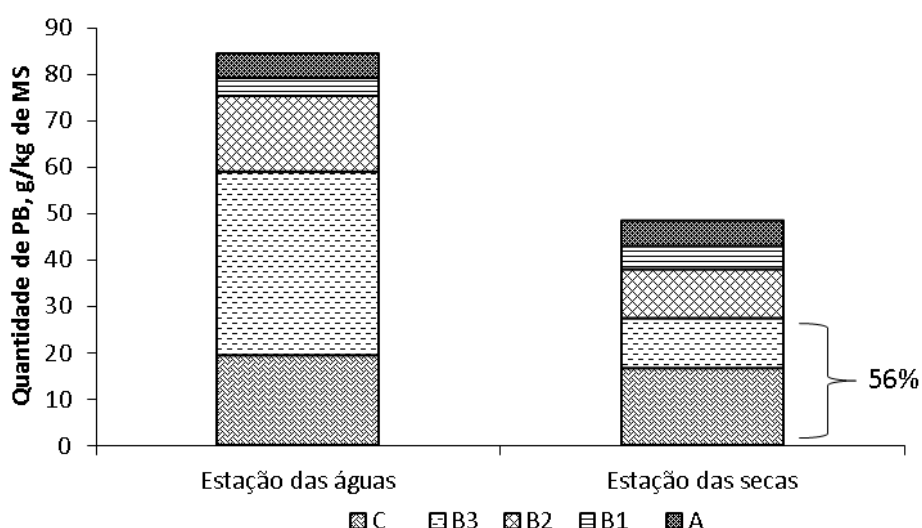


Figura 5 - Variação da quantidade média de proteína bruta e suas frações entre as estações de águas e secas. Adaptado de Vieira et al. (2000).

Assim, em função do elevado teor de carboidratos estruturais e à indisponibilidade de parte da fração proteica das forrageiras tropicais (Vieira et al., 2000; Balsalobre et al., 2003), no período da seca o consumo dos animais é reduzido mesmo em situações que a estrutura do pasto (baixa proporção de colmo) não seja limitante (Mertens, 1994; Silva et al., 2009), justificando menores desempenhos dos animais exclusivamente a pasto na seca comparada as águas (0,460 vs. 0,235 kg/dia; Euclides et al., 1993).

Assim, é necessário que se promova um manejo adequado na prática do diferimento, proporcionando melhor estrutura no momento do pastejo e, conseqüentemente, melhor desempenho animal. Em razão do valor nutricional limitante é necessário que se utilize estratégias como a suplementação, visando corrigir as principais deficiências, para alcançar maiores desempenhos no período da seca.

4.2 Suplementação na seca: corrigindo os entraves nutricionais do pasto e ajustando o desempenho à meta

Em ruminantes ocorre extensa fermentação da proteína dietética e do nitrogênio não-proteico (NNP) no retículo-rúmen, convertendo-os em proteína microbiana e N-NH₃. A importância desse processo se deve às alterações no perfil de aminoácidos que chegarão ao intestino, pois a proteína microbiana é uma fonte proteica de alta qualidade, contendo um adequado balanço de aminoácidos, inclusive os essenciais (Nolan, 1993). Isso confere aos ruminantes a vantagem evolutiva de transformar fontes proteicas de baixa qualidade e NNP em proteína de alta qualidade (carne) para consumo humano.

No entanto, como visto anteriormente, no período da seca a forragem apresenta teores de proteína limitantes para a plena atividade microbiana, assim como elevada proporção de carboidratos fibrosos (com taxa de degradação reduzida, Kd < 10%/h) (Santos, 2006; Santos et al., 2010). Desta forma, em sistemas com base na produção de animais em pastagens, no período seco, deve-se identificar as principais limitações nutricionais do pasto e corrigí-las através da

suplementação, melhorando o desempenho dos animais e a eficiência dos sistemas de produção (Reis et al., 2005).

Segundo Detmann et al. (2010), um programa de suplementação deve inicialmente explorar o uso dos recursos nutricionais basais (pasto), minimizando o custo de produção, e em seguida promover a adequação do desempenho dos animais à meta pretendida. Podendo assim, dividir o programa de suplementação em duas fases distintas (Figura 6), sendo elas: fase I – identificação de limitantes, suprimir deficiências primárias e quantificação da resposta animal; fase II – introdução de recursos suplementares para adequação à meta de desempenho, caso necessário após fase I.

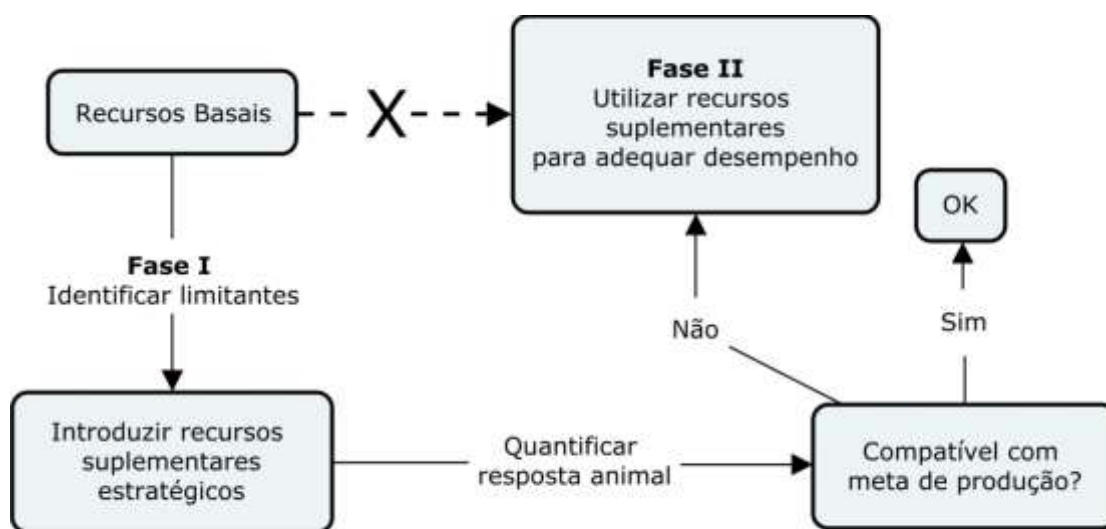


Figura 6 – Representação esquemática de um programa de suplementação para animais em pastejo. Adaptado de Detmann et al. (2010).

A partir disso, Detmann et al. (2009) e Detmann et al. (2010) compilaram uma série de dados a partir de estudos que objetivaram corrigir deficiências proteicas de animais alimentados com feno de baixa qualidade (Lazzarini, 2009; Sampaio, 2010), onde os principais resultados estão apresentados na Figura 7. Os autores observaram que devido ao valor nutricional limitante houve deficiência absoluta de compostos nitrogenados para síntese de enzimas microbianas, necessárias para a degradação da fibra da forragem, implicando no comprometimento do consumo dos animais.

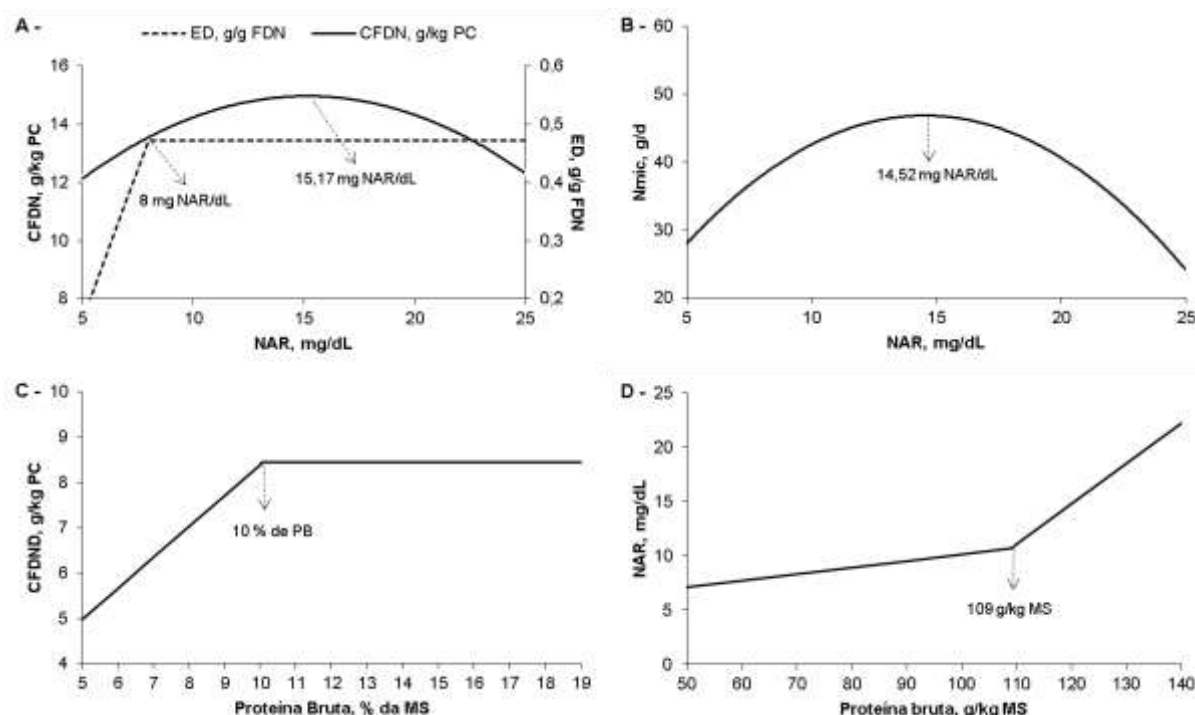


Figura 7 – Dados oriundos de animais alimentados com feno de baixa qualidade e elevação do teor proteico da dieta com mistura de ureia, sulfato de amônia e albumina (relação de 4,5:0,5:1,0). **A)** Relação entre efetiva degradação da fração insolúvel em detergente neutro (ED, $\hat{Y} = -35,4390 + 10,323 \times X$, $\forall X \leq 8,0048$, $\hat{Y} = 47,1940$, $\forall X > 8,0048$, $R^2 = 0,9124$), o consumo da fração insolúvel em detergente neutro (CFDND, $\hat{Y} = 8,6387 + 0,8353 \times X - 0,027525 \times X^2$, $R^2 = 0,5087$) e a concentração do nitrogênio amoniacal no rúmen (RAN). **B)** Relação entre fluxo intestinal de nitrogênio microbiano e RAN ($\hat{Y} = 3,1825 + 6,0213X - 0,207380X^2$; $R^2 = 0,5485$). **C)** Consumo de FDN digestível (CFDND) em função do nível de proteína bruta (PB) da dieta ($\hat{Y} = 1,5575 + 0,684 \times X$, $\forall X < 10,0311$, $\hat{Y} = 8,4425$ $\forall X \geq 10,0311$). **D)** Relação entre concentração de NAR e concentração de PB na dieta ($\hat{Y} = 4,012 + 0,06142X$, $\forall X \leq 109,038$; $\hat{Y} = -29,829 + 0,37178X$, $\forall X > 109,038$; $R^2 = 0,7520$). Adaptado de Detmann et al. (2009) e Detmann et al. (2010).

Assim, ao se introduzir compostos nitrogenados à dieta dos animais, proporcionando a elevação no nitrogênio amoniacal do rúmen (NAR), fundamental para crescimento microbiano (Satter e Slyter, 1974), houve elevação da porção degradável da FDN até que se atingiu o platô de degradação aos 8 mg/dL de NAR (Figura 7 - A; Detmann et al., 2009). No entanto, o consumo de FDN se elevou até os níveis de 15 mg/dL de NAR, ponto próximo ao observado para a produção de proteína microbiana (Figura 7 - A e B). Embora a diferença entre pontos máximos de

degradação e consumo possa parecer contraditória inicialmente, é determinada em parte pelo aumento da velocidade de degradação da FDN (Paulino et al., 2006).

Em concentrações de NAR acima de 15 mg/dL há redução de consumo pelos animais acompanhado de perdas de nitrogênio no rúmen (Detmann et al., 2009). Maiores perdas de nitrogênio acarretam em redução do consumo voluntário em função do gasto de energia para conversão de N em ureia no fígado (Vissek, 1984), incrementos calóricos (Poppi e McLennan, 1995), e indisposição pelo excesso de amônia no sangue (Detmann et al., 2007).

Assim, em relação aos dados avaliados, Detmann et al. (2010), sugeriram que a fase I da suplementação se encerraria com a correção dos teores de proteína bruta (PB) da dieta para valores próximos a 10%. Pois a concentração de NAR se eleva linearmente em função do teor de PB da dieta, porém com angulação ligeiramente acentuada após 10,9% de PB, o que evidencia, a partir daí, o limite energético do substrato (pasto) para que os microrganismos assimilem o NAR (Figura 7; Detmann et al., 2009), podendo reduzir o consumo voluntário de forragem.

Para a compreensão dos fatores relacionados à fase II da suplementação, é necessário levar em consideração os efeitos associativos entre o consumo de pasto e a quantidade e qualidade do suplemento ofertado, pois impactam no desempenho dos animais. Segundo Moore (1980), são observados efeitos: substitutivo, com decréscimo de consumo de pasto, mas com manutenção do nível de consumo de energia digestível total; aditivo, com manutenção do consumo de forragem e elevação do consumo de energia digestível pela adição do consumo de concentrado; e por último o efeito associativo ou combinado, com leve redução de pasto, porém com elevação no consumo de energia digestível total devido ao suplemento.

No início da fase de recria no período seco, o efeito aditivo deve ser priorizado em função da otimização do consumo de energia e aproveitamento dos recursos basais (pasto). De acordo com Moore et al. (1999), quando a relação entre a digestibilidade da matéria orgânica e o teor de proteína das forrageiras apresentam valores superiores a 7, em função da deficiência relativa do nitrogênio em relação a energia, o efeito da suplementação sobre o consumo de matéria seca de forragem é majoritariamente positivo. Segundo Souza et al. (2010), a

suplementação dos animais com a associação entre compostos nitrogenados (NNP e PDR) e carboidratos de rápida degradação ruminal exercem efeitos aditivos sobre o consumo de forragem de baixa qualidade, permitindo ainda aumentar a assimilação do NAR, o coeficiente de digestibilidade da dieta e reduzir a excreção de nitrogênio pelos animais (Figura 8).

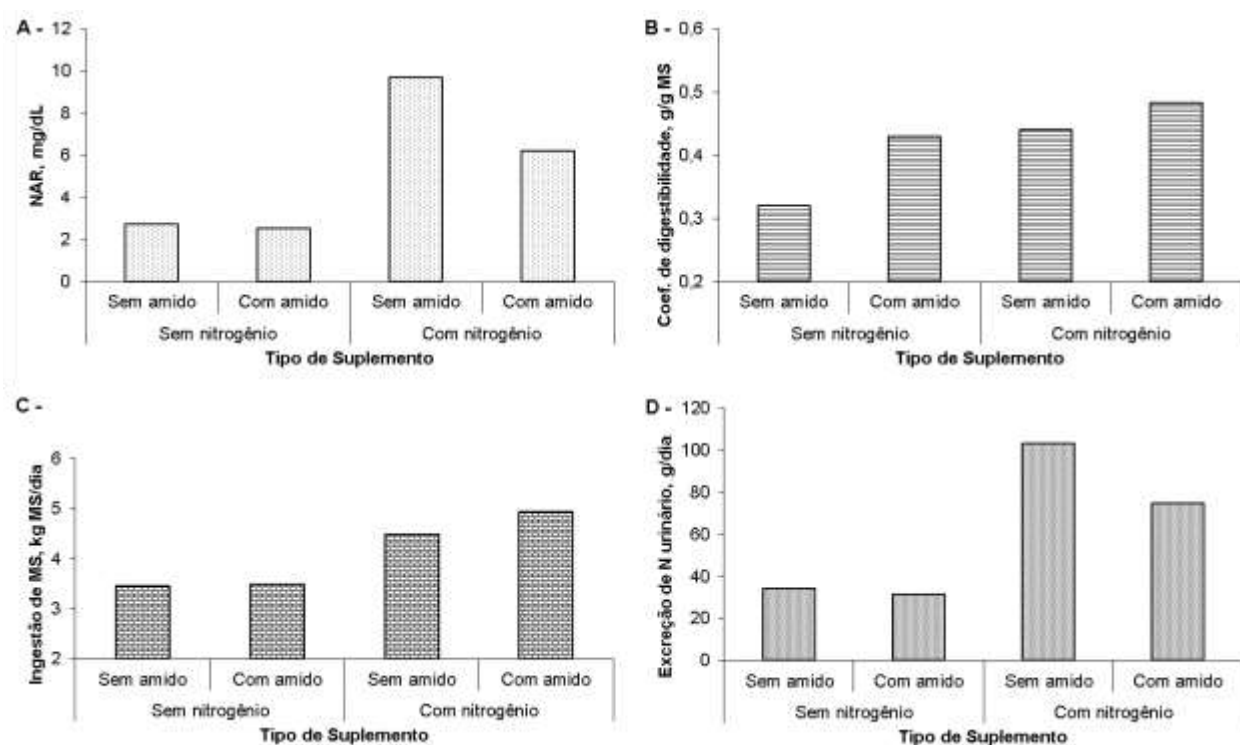


Figura 8 – Concentração de nitrogênio amoniacal no rumen (NAR; **A**), coeficiente de digestibilidade da matéria seca (MS; **B**), ingestão de MS (**C**) e excreção de nitrogênio urinário (**D**) em função da suplementação ou não dos animais (231,9±15,5 kg de PC) com nitrogênio e/ou amido, alimentados com feno de baixa qualidade. Adaptado de Souza et al. (2010).

A suplementação dos animais com a combinação entre compostos nitrogenados e carboidratos altera a composição da população microbiana e também a concentração de NAR para o ponto máximo de consumo (McAllan e Smith, 1983; Hoover, 1986; Russell, 2002). Porém, segundo Detmann et al. (2010), a concentração de 8 mg/dL de NAR continua sendo o mínimo para que os microrganismos que degradam fibra oriunda de pasto de baixa qualidade possam desenvolver suas plenas atividades. Adicionalmente, o consumo voluntário máximo pode ser atingido em uma relação de proteína/energia entre 210 e 288 g PB/kg

MOD, acima desses valores perdas excessivas de proteína ocorreriam (Poppi e McLennan, 1995; Detmann et al., 2014b).

A quantidade de suplemento ofertado possui grande influência no desempenho dos animais (Zervoudakis et al., 2011; Silva et al., 2009). Neste sentido, Fernandes et al. (2018), apresentaram uma compilação de dados a partir de experimentos realizados na APTA – Colina, SP (Polo Alta Mogiana) utilizando os tipos e níveis de suplemento mais utilizados na fase de recria no período seco, sendo eles: sal mineral (SM; com fornecimento de 100 g/cabeça/dia); suplemento proteico (1 g/kg do PC animal; composto de mineral proteico com 50% de PB e aditivo ionóforo); suplemento proteico energético (3 g/kg do PC animal; composto por minerais, 25% de PB e 65% de nutrientes digestíveis totais); e por último, suplemento proteico energético (5 g/kg do PC animal; composto por minerais, 25% de PB e 65% de nutrientes digestíveis totais).

Na Tabela 1 estão expostos os resultados médios obtidos em cada estratégia de suplementação mencionada, onde os animais do SM apresentaram o menor desempenho entre as estratégias apresentadas (0,05 kg/dia). No entanto, os autores reportam ainda que os dados apresentam um diferencial de resposta constante tomando por base o desempenho dos animais suplementados apenas com SM. Assim, em relação à elevação dos níveis de suplementação o diferencial a partir do desempenho com SM foi de 0,200, 0,300 e 0,380 kg/dia, respectivamente para os suplementos 1, 3 e 5 g/kg do PC. Ou seja, o desempenho absoluto dependerá da qualidade do pasto disponível para os animais e determinará a escolha do nível de suplementação necessário para se adequar o desempenho à meta de produção (fase II).

Fernandes et al. (2018), destacam ainda a necessidade de se obter produções entre 1 e 2 arrobas por animal no período de seca, para reduzir os custos de produção e aliviar a pressão para altos ganhos no período das águas. Assim, dentre o período de seca apresentado (150 dias) os níveis de 1, 3 e 5 g/kg do PC promoveram ganhos de 1,25, 1,75 e 2,15 arrobas, respectivamente. Animais tratados apenas com SM necessitariam de 600 dias para o ganho de uma arroba, em condições projetadas de seca estendida, mostrando-se inviável para condições de recria intensivas.

Tabela 1 – Desempenho médio de animais sob diferentes estratégias de suplementação no período seco do ano.

Suplemento	GMD (kg/dia)	Ganho (@)	PC final (kg)	Dias p/ ganhar 1 @
SM	0,05	0,25	218	600
1 g/kg do PC	0,25	1,25	248	120
3 g/kg do PC	0,35	1,75	263	86
5 g/kg do PC	0,43	2,15	275	70

GMD = ganho medio diario; Ganho = ganho de peso em equivalente 15 kg de carcaca. Peso inicial considerado de 210 kg de PC e período de avaliação de 150 dias. Adaptado de Fernandes et al. (2018).

4.3 Composição dos suplementos: a ureia e suas peculiaridades

O sistema de exigência em proteína metabolizável (PM) baliza os diferentes requerimentos existentes entre os microrganismos do rumen e o hospedeiro, dividindo-se a PM em proteína degradável no rumen (PDR) e proteína não degradável no rumen (PNDR; NASEM, 2016).

A junção da fração fermentável da proteína verdadeira ingerida pelos animais (proteínas, peptídeos e aminoácidos [AA]) e virtualmente todo o NNP (ureia, ácidos nucleicos, amidas, amins e nitrato), formam a PDR. A PNDR é composta pela PDR que escapa da fermentação (NASEM, 2016). Adicionalmente, o requerimento de PDR se baseia na predição da síntese de Pmic, assumindo-os como equivalentes (NRC, 1996 e 2000), assim, maximizar a produção de Pmic através do atendimento das exigências de PDR é fundamental para que se obtenha eficiência, sobretudo em sistemas de produção a pasto (como visto anteriormente).

Devido às das perdas ocorridas no rúmen (absorção de N-NH₃ e passagem de PDR para o intestino; Figura 9), para o NRC (2001) a eficiência de conversão da PDR em Pmic é de 85% e, por isso, seu requerimento é obtido pela multiplicação por 1,18 vezes a Pmic estimada. Embora também assuma que haja perdas no rúmen, o NASEM (2016) considera que as perdas sejam compensadas pelos processos envolvidos na reciclagem de nitrogenio (RN). Sendo a RN uma vantagem

evolutiva dos ruminantes, minimizando impactos em condições deficitárias de ingestão de compostos nitrogenados, fato exposto pela sobrevivência de animais selvagens no período seco ou mesmo pela manutenção do desempenho dos animais com suplementação em dias alternados (Canesin et al., 2007; Simioni et al., 2009).

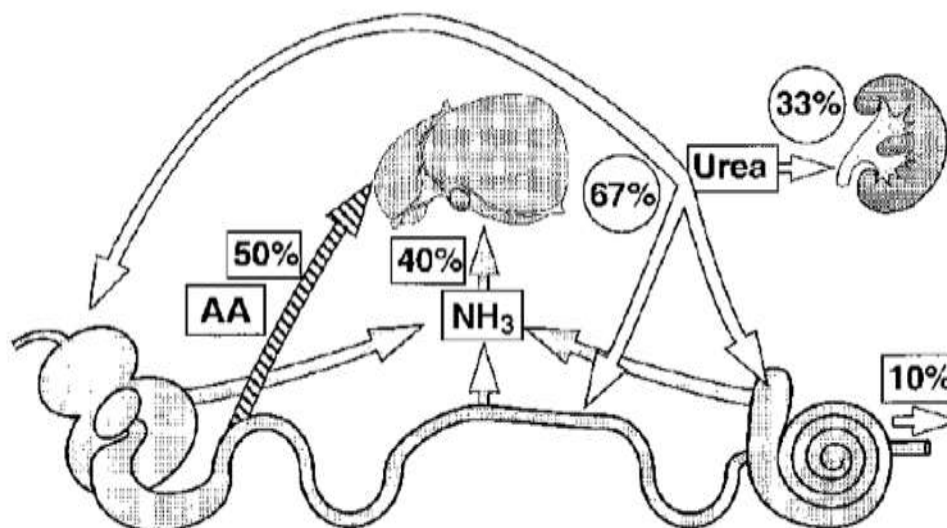


Figura 9 – Ciclo representativo da reciclagem de nitrogênio, mostrando o fracionamento da ureogênese hepática envolvendo as vias intestinais e urinárias; valores no quadro retângulo representando as frações recicladas e perdas nas fezes, retornada como amônia para o ciclo da ornitina ou direcionada para o anabolismo. Disso, em média, 33% do N oriundo do fluxo hepático é eliminado pela urina, 67% retorna em diferentes porções do trato digestivo. Após isso, 10% é perdido nas fezes, 40% reabsorvido como N-NH₃ e 50% reabsorvido como fontes destinadas ao anabolismo. Dados oriundos de vacas leiteiras, novilhos e ovinos. Adaptado de Lapierre e Lobley (2001).

Neste contexto, o uso da ureia como ferramenta de ajuste da PDR ou mesmo para compor parte da PB em suplementos, se mostra como uma estratégia para redução de custos, explorando a demanda das bactérias por N-NH₃. A ureia não possui valor energético próprio, isenta de minerais e rapidamente convertida em N-NH₃ no rúmen (Maynard et al., 1984). Em geral, é a fonte de NNP de menor custo para ser usado na formulação de dietas, possuindo elevado grau de pureza e cerca de 281% de equivalente proteico (quantidade, em percentagem, de proteína; 41% de N x 6,25).

Em função da rápida degradação no rumen, aumentar a concentração de ureia demasiadamente nas dietas compromete a eficiência de utilização de nitrogênio através do incremento de perdas por desbalanços entre disponibilidade ruminal e utilização pelos microrganismos (Figura 10 – B; Van Soest, 1994) e absorção na parede ruminal. Entretanto, a formulação de dietas visando o sincronismo (Figura 10 – A) entre nutrientes é questionada atualmente em função de uma série de fatores, tais como dificuldades em predição e aferição do sincronismo, fatores fisiológicos que alteram a demanda de compostos nitrogenados, assim como a reciclagem de nitrogênio, entre outros (Cole et al., 2008; Hall et al., 2008). Se tratando de sistemas a pasto com uso do recurso da suplementação, a utilização de ureia, possui uma conotação especial, sendo um dos principais reguladores de consumo, sobretudo no período seco, onde os suplementos possuem teor proteico elevado (Detmann et al., 2007).

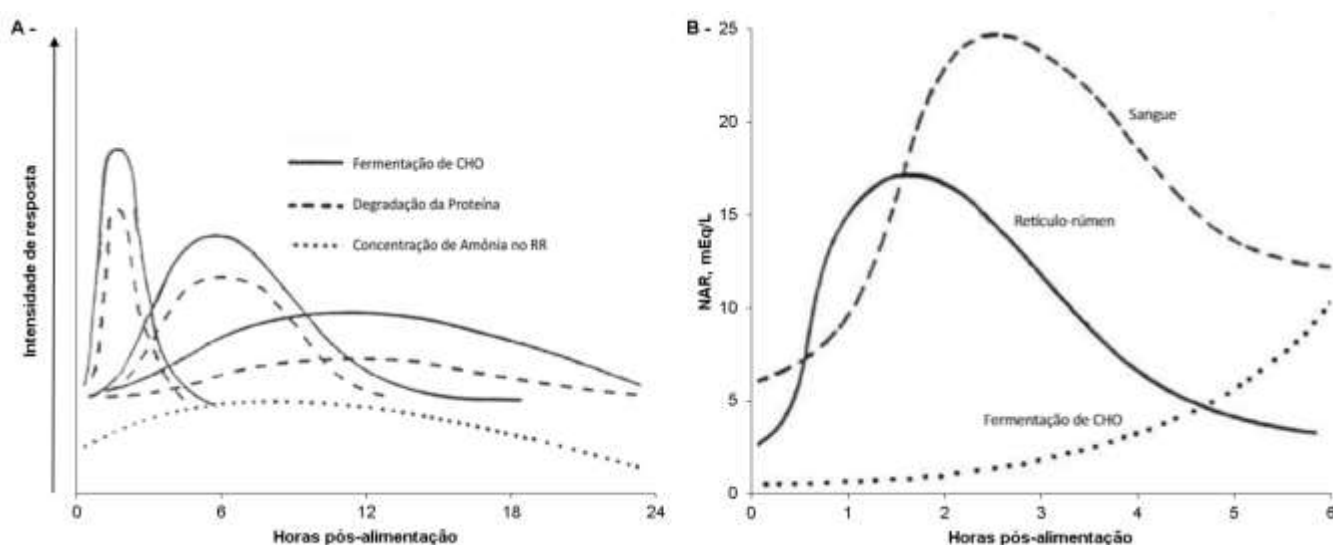


Figura 10 – A) Sincronização teórica dos diferentes tipos de carboidratos e proteínas dietéticas em relação a sua fermentação no retículo-rúmen (RR) e, conseqüentemente, alteração na concentração de NH₃. **B)** Efeitos na concentração de compostos nitrogenados (NH₃) em mEq/L no retículo-rúmen e no sangue, pela inexistência de sincronização da fermentação entre carboidrato. Adaptado de Van Soest (1994).

Os resultados em relação ao uso da suplementação, de modo geral, são menos pronunciados quando se utiliza apenas fontes de NNP (Siebert e Hunter, 1982). Avaliando o efeito da concentração de ureia em suplementos para novilhas

no período seco, Paulino et al. (1983) verificaram redução no consumo com o aumento da inclusão de ureia nos suplementos, onde as participações de 0, 5, 10 e 15% de ureia no suplemento resultaram no consumo de 1,66, 0,63, 0,49, 0,25 kg/dia de concentrado, respectivamente. De maneira semelhante, Moraes et al. (2009), avaliaram a inclusão de ureia sobre o consumo dos animais e verificaram que embora a digestibilidade total do material consumido pelos animais não tenha variado, a ingestão de matéria seca total, matéria seca oriunda de pasto, proteína e FDN apresentaram um comportamento quadrático em relação ao consumo. Adicionalmente, não houve incrementos quanto à produção de proteína microbiana, em paralelo, a excreção e perdas de nitrogênio tiveram aumentos crescentes, fazendo com que os autores recomendassem a inclusão de até 2,4% de ureia nos suplementos.

Inicialmente, a redução de consumo com maiores inclusões de ureia foi associada exclusivamente aos atributos sensoriais da ureia (odor e sabor; Huber e Cook, 1972). Após a realização de um estudo com diversos experimentos testando os componentes envolvidos na aceitação da ureia, Kertz et al. (1982), concluíram que a rejeição é resultante de uma exposição prévia a altas concentrações, fazendo com que o *feed back* fisiológico proporcione aos animais a capacidade de reconhecer concentrações prejudiciais de ureia através de características sensoriais, atribuindo a isto o termo “reflexo negativo condicionado”. Adicionalmente, efeitos negativos são causados pelo excesso de amônia absorvido pelo epitélio e que passam intactos pelo fígado, afetando o metabolismo energético e a excreção de N (Boin, 1983; Visek, 1984). Isso leva a intoxicações subagudas, que dificilmente são detectadas pelas concentrações amoniacais sanguíneas, sendo os verdadeiros danos ocorridos a nível intracelular (Visek, 1984; Detmann et al., 2007)

Em função disso, foram realizados diversos estudos objetivando determinar a relação ideal entre NNP/PB. Detmann et al. (2011), conduziram um estudo *in vitro* para determinar a relação ótima entre NNP e proteína verdadeira (caseína) com forragem de baixo valor nutricional, deficientes em PB. Os autores observaram que a fermentação foi maximizada em uma relação de 2/3 de equivalente proteico oriundos de fontes de NNP, recomendando a proporção para uso na formulação de suplementos para o padrão de forragem avaliado.

No entanto, o teor proteico do material incubado foi corrigido para proporcionar 8 mg/dL de NAR, valores abaixo disso conotam deficiência de compostos nitrogenados para suportar a produção de enzimas pelos microrganismos ruminais e, ainda, os valores máximos de consumo são obtidos acima desta concentração de NAR (Detmann et al., 2009). Desconsiderou-se também a elevação crescente de $N-NH_3$, o que potencialmente proporcionaria perdas no ambiente ruminal.

Costa et al. (2011), indicaram através de ensaios *in vivo* que a proporção de 1/3 de PB oriundo de fração NNP apresentaria melhores respostas em condições tropicais. Utilizando essa fração, para ajuste das exigências de PDR, o incremento de PNDR é capaz de elevar a retenção corporal de nitrogênio, elevando a quantidade de PM ingerida, porém, sem influência sobre o consumo e digestibilidade da MS total e da fração de MS oriunda de forragem (Batista et al., 2016). Fernandes et al. (2016), verificaram que inclusões de até 1/2 de PB oriunda de NNP podem ser utilizadas sem comprometer a eficiência da suplementação, onde valores acima disso comprometem o consumo do suplemento pelos animais. Os animais podem minimizar os efeitos da suplementação com níveis mais elevados de NNP com maior número de visitas ao cocho, porém essa estratégia pode comprometer o desempenho pela elevação da exigência de energia de manutenção (maior deslocamento), devendo-se considerar também o maior desprendimento de tempo, podendo reduzir o tempo disponível para pastejo (Fernandes et al., 2018).

4.4 Agentes promotores da fermentação ruminal e alguns de seus substratos preferenciais

Os ruminantes desenvolveram uma relação de simbiose com microrganismos ruminais, conferindo-lhes a capacidade de assimilar eficientemente a energia advinda da celulose das forragens e fontes de NNP (Selinger et al., 1996). O rúmen, câmara onde predominantemente ocorre a fermentação, é um ambiente complexo e composto por uma imensa variedade de bactérias ($>10^{11}$ células/mL), protozoários (10^4-10^6 células/mL), fungos (10^3-10^6 zoosporos/mL), *Archeas* (10^6 cells/mL) e bacteriófagos (10^7-10^{10} partículas/mL) (Morgavi et al., 2013).

A maioria dos microrganismos que vivem no rumen não pode ser cultivados eficientemente em laboratórios, dificultando o conhecimento a seu respeito. Recentes avanços em sequenciamento e bioinformática, reduziram os custos dos procedimentos e possibilitaram aos cientistas realizar uma análise de sequenciamento metagenômico, onde todos os genes de uma amostra ruminal possam ser analisados. Os estudos se baseiam na ampliação de genes nas regiões 16sRNA, *mcrA*, 18sRNA ou ITS-1, usados, respectivamente, para descrever bactérias, *Archeas*, protozoários e a população de fungos (Ribeiro et al., 2016).

Atualmente, menos de 15% da diversidade bacteriana do rúmen é conhecida (Morgavi et al., 2013), o Global Rumen Census (<http://www.globalrumencensus.org.nz/home.html>) e os projetos Hungate 1000 (<http://www.hungate1000.org.nz/>) e Rumenomics (<http://www.ruminomics.eu/>) estão constantemente sendo atualizados e ajudam a compreender o ecossistema ruminal.

Conhecer os microrganismos ruminais que degradam fibra pode ajudar a aumentar a eficiência de sistemas de produção em pastagens e fibra de baixa qualidade, dentre eles se destacam quatro bactérias, *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* e *Butyrivibrio fibrisolvens*, além delas, os fungos em menor proporção (Krause et al., 2003; Morgavi et al., 2013). Controlar a abundância e atividade da ação proteolítica e a deaminação dos microrganismos ruminais, sem afetar os processos celulolíticos, pode aumentar a eficiência de uso do nitrogênio, reduzir perdas e aumentar o desempenho dos animais (Firkins e Morrison, 2007).

Dentre as bactérias, as espécies *Butyrivibrio fibrisolvens* (Wallace e Brammall, 1985) e *B. proteoclasticus* (Attwood e Reilly, 1995) se destacam pela elevada abundância e ação proteolítica. Além delas, a *Streptococcus bovis* expressa proteases extracelulares (Attwood e Reilly, 1996; Griswold et al., 1999) de elevada atividade proteolítica, podendo ser predominante em ambientes de pastagens de elevado teor proteico (Attwood e Reilly, 1995).

Outras bactérias como *Selenomonas ruminantium* (Wallace, 1985) e *Ruminobacter amylophilus* (Cotta e Hespell, 1986), embora tenham baixas abundâncias, também contribuem para a proteólise ruminal. Espécies de *Eubacterium*, especialmente *Eubacterium budayi*, chegam a contribuir com 16% do

total da atividade proteolítica no rúmen (Attwood e Reilly, 1995). As espécies de *Prevotella*, talvez sejam as de maior participação quanto à abundância e atividade ruminal (Henderson et al., 2015; Jami e Mizrah, 2012).

Logo após a quebra inicial das proteínas são gerados os peptídeos, que também sofrem ação das bactérias pelas peptidases (Wallace et al., 1997). Dentre elas se destacam a *Prevotella*, com elevada ação peptídica e a *Megasphaera elsdenii*, com ação elevada sobre dipeptídeos, sobretudo na ausência de protozoários (Wallace, 1991). Além dessas, as *R. amylophilus*, *S. bovis*, *L. multipara*, *F. succinogenes* e *E. ruminantium*, também possuem alguma atividade peptidolítica, porém com contribuições marginais (Wallace, 1991).

Finalmente, tem a deaminação, onde uma porção destes aminoácidos é direcionada para a produção de proteína microbiana (Tamminga, 1989), sendo que diversos microrganismos podem promover a deaminação (Scheifinger et al., 1976). Existem bactérias de baixa ou moderada atividade de deaminação, com produções de amônia entre 10 e 20 nmol/min/mg de proteína. Dentro desse grupo incluem as *Butyrivibrio fibrisolvens* e *P. ruminicola*, assim como algumas *M. elsdenii*, porém com maior variabilidade (Wallace, 1997).

Além dessas, existem as bactérias de elevada atividade de deaminação, embora possuam baixa abundância são capazes de produzir valores acima de 300 nmol de amônia/min/mg de proteína, sendo chamadas de bactérias hiperamoníacas (BHA) (Wallace, 1997). As BHA possuem impacto direto na eficiência de utilização de N e na reciclagem, uma vez que liberações graduais de amônia no rumen aumentam a eficiência de utilização (Chen et al., 1989). As bactérias *Clostridium aminophilum*, *C. sticklandii* e *Peptostreptococcus anaerobius*, são as clássicas BHA (Paster et al., 1993), outros estudos parecem indicar também a presença de BHA em gêneros como *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Acidaminococcus* e *Desulfomonas* (Attwood et al., 1998; Eschenlauer et al., 2002).

A população predita de BHA é maior em animais ingerindo feno comparado aos que ingerem grãos, mostrando a preferência por certos substratos (Rychlik et al., 2000). As BHA são caracterizadas pela sensibilidade a ionóforos, pela habilidade em utilizarem aminoácidos como fonte exclusiva de N, carbono e energia e, ainda, pela incapacidade de hidrolisar proteínas e peptídeos (Attwood et al., 1998).

A atividade ureolítica no rumen também é de suma importância, atuando diretamente na reciclagem de nitrogênio, sendo exercida por uma vasta gama de gêneros e cepas de microrganismos, como *Staphylococcus sp.*, *Lactobacillus casei var. casei*, *Klebsiella aerogenes* e *Strep. Faecium*, ocorrendo a urease intracelularmente ou liga à superfície das células (Hartinger et al., 2018).

Os protozoários também contribuem para a fermentação no ambiente ruminal, degradando parte significativa da proteína insolúvel (Lockwood et al., 1988). Adicionalmente, por predarem bactérias (Belanche et al., 2012) e fungos (Gordon e Phillips, 1998), assim como pequenos protozoários (Williams e Coleman, 1992), podem impactar negativamente no metabolismo de nitrogênio (Lockwood et al., 1988; Hartinger et al., 2018). Exercem cerca de 20% da atividade proteolítica e contribuem com degradação de fibras (Selinger et al., 1996; Ivan et al., 2000; Devillard et al., 2003).

Dentre os protozoários de elevada atividade proteolítica se destacam *E. caudatum*, *E. simplex* e *D. ruminantium*, porém com especificidades distintas (Ushida e Jouany, 1985; Hartinger et al., 2018). *P. multivesiculatum*, *Isotricha* e *Ophryoscolex caudatus* apresentam uma atividade proteolítica de menor intensidade (Ushida e Jouany, 1985; Lockwood et al., 1988). Os protozoários podem degradar dipeptídeos e peptídeos, dentre eles destacam-se espécies de *Entodinium*, *D. ruminantium*, membros de *Isotricha*, *isotrichids* e *entodiniomorphids* (Hartinger et al., 2018). Porém, não foram detectadas atividades ureolíticas em protozoários (Abou Akkada e Howard, 1962).

4.5 Taninos e seu potencial como aditivos em suplementos para o período seco

Os taninos representam uma importante classe de metabólitos secundários e estão presentes em grande parte das plantas, sendo produzidos pelo seu metabolismo intermediário (Mueller-Harvey, 2006). Podem ser definidos como um grupo heterogêneo complexo de polifenóis de origem vegetal com peso molecular variado (500 a 3000 Da) (Ferreira e Nogueira, 2000; Aganga e Monase, 2001). Atuam como agente protetor ao ataque de insetos e herbívoros, variando sua

concentração e composição nas plantas em função de diversos fatores, dentre eles: diferenças genéticas dentre espécies, fertilidade do solo, estágio vegetativo, estresse hídrico, época do ano, entre outros (Maass et al., 1996; Lascano, 2001).

Em relação a sua estrutura molecular, são classificados como taninos hidrolisáveis (TH – poliésteres de ácido gálico e vários açucares individuais) ou taninos condensados (TC – polímeros de flavonóides) (Makkar, 2003). Os TH são moléculas complexas com uma fração central, como glicose, glucitol, ácido quinico, quercitol e ácido chiquímico, parcialmente ou totalmente esterificado do grupo fenólico, como o ácido gálico ou dímeros de ácido gálico hexahidroxi-difenico (Figura 11 - A). Formam complexos com proteínas no rumen, porém são susceptíveis à hidrólise por ácidos, bases ou esterases, fazendo com que sua estabilidade no rúmen seja baixa (Patra e Saxena, 2010).

Os TC, ou proantocianidinas, são basicamente polímeros de catequinas e unidades de galocatequinas, ligados por pontes interflavanóides e monômeros como a profisetinidinas encontradas no quebracho (Figura 11 - B). Possuem elevada estabilidade no rúmen, podendo formar complexos com a proteína no pH ruminal (6 a 7) e, posteriormente, no abomaso (pH < 3,5) essas ligações são rompidas, possibilitando a digestão gástrica e pancreática da proteína, estando assim relacionados ao aumento do fluxo de proteína para o intestino e redução da digestibilidade quando em excesso (Jones e Mangan, 1977; Patra e Saxena, 2010).

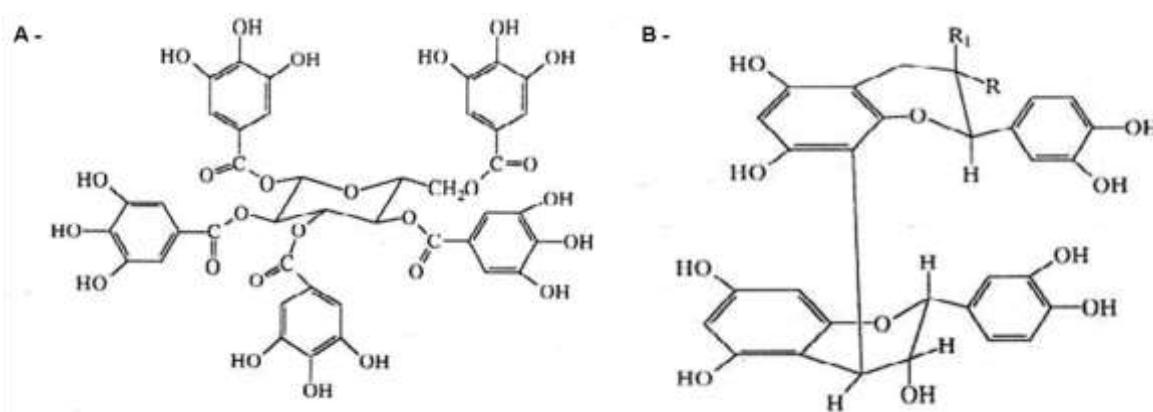


Figura 11 – Estrutura química de taninos hidrolisados (A) e taninos condensados. Adaptado de Naumann et al. (2017).

Inicialmente, taninos eram conhecidos pela aplicação no curtimento do couro, através da formação de complexos com proteínas da pele animal inibindo a putrefação (Deshpande et al., 1986) e pela inibição do consumo voluntário dos animais, quando presente nas plantas, devido à formação de complexos com as proteínas da mucosa da boca dos animais, causando adstringência (Frutos et al., 2002). No entanto, atualmente sabe-se que restrições quanto ao consumo são observadas apenas em concentrações muito elevadas para ruminantes (60 a 120 g/kg de MS) (Frutos et al., 2002). Em silagens, estudos apontam que variedades de sorgo com maiores concentrações de taninos podem reduzir o ataque de pássaros em lavouras sem reduzir o desempenho dos animais que serão alimentados, em função do pH reduzido do material ensilado, enfraquecendo os complexos formados (Oliveira et al., 2015).

É possível verificar informações na literatura quanto à manipulação da fermentação ruminal e, inclusive, reduzindo as emissões de CH₄ pelo uso de taninos, devido à inibição da *Methanobrevibacter ruminantium*, uma das maiores contribuintes para a emissão do gás (Tavendale et al., 2005). No entanto, há relatos de inibição de protozoários, responsáveis também pela liberação de H₂ e possuir associação de simbiose com grupos de metanogênicas (Vogels et al., 1980; Beauchemin et al., 2008). Em compilação de dados oriundos de 15 experimentos e 41 tratamentos voltados ao estudo do efeito de taninos sobre diferentes parâmetros, Jayanegara et al. (2012), obtiveram decréscimos lineares na relação CH₄/MO digestível com a elevação da concentração de taninos. O timpanismo espumoso também pode ser inibido pela ação dos taninos, por formarem complexos com o excesso de proteínas solúveis, não há acúmulo excessivo das bolhas que impedem a eliminação dos gases, tendo efeito positivo nessas condições (Patra e Saxena, 2011).

Os três filos bacterianos mais abundantes no ambiente ruminal (Bacteroidetes, Firmicutes e Proteobacterias) (Oliveira et al., 2013; MCCann et al., 2014) podem sofrer influência dos taninos (Archana et al., 2010). A relação Firmicutes/Bacteroidetes pode sofrer elevação com o uso de taninos nas dietas e, com isso, há benefícios diretos na eficiência dos animais (Carrasco et al., 2017).

Devido à capacidade de complexar proteínas, taninos podem aumentar o fluxo de proteína metabolizável para os intestinos (Makkar, 2003), onde a redução da degradação proteica no rúmen pelos taninos pode ocorrer em função da formação de complexos tanino-proteínas no rúmen (Zelter et al., 1970) e também pela manipulação da microbiota ruminal (Jones et al., 1994). Isso ocorre pela formação de uma “cobertura de polímeros” sobre a membrana celular (Figura 12), impedindo a produção de enzimas e agregação aos nutrientes por parte das bactérias, podendo romper a membrana celular ou causar aglutinação das mesmas (Jones et al., 1994). Akiyama et al. (2001), sugerem também a capacidade adstringente dos taninos em romper a membrana, além da capacidade de se ligar a íons de Fe^{+} , impedindo seu uso pelas bactérias.

A degradação proteica no rúmen ocorre, principalmente, pela ação de enzimas secretadas por bactérias (proteases, peptidases e deaminases) (Xia et al., 2016). Por serem capazes de manipular a microbiota, inibindo a população de indivíduos proteolíticos, incluindo grupos de hiperamoníacas (que possuem baixa taxa de multiplicação), fazem com que a eficiência de utilização do N no rúmen aumente (Mezzomo et al., 2011), alterando a rota de excreção do N devido a menores perdas de na urina (Aboagye et al., 2018).

Devido a significativa participação dos protozoários na degradação proteica, reduzir sua população também poderia incrementar a eficiência de utilização proteica (Abou Akkada e Howard, 1962). No entanto, os benefícios quanto à defaunação ou alteração populacional seguem sendo estudados, sendo que não há consenso quanto aos efeitos gerados pelos taninos, pois os resultados em termos de alteração populacional seguem controversos (Patra e Saxena, 2010).

Em compilação de dados, Barajas et al. (2015), verificaram que em baixas concentrações, o desempenho dos animais pode ser incrementado pelo uso de extratos de taninos. De maneira semelhante, Manella e Cidrini (2018), compilando dados de diversos experimentos, verificaram um adicional médio na ordem de 6 kg de peso de carcaça em função do uso de extratos de taninos, em baixas concentrações (1,5 g/kg de MS), em dietas de terminação. Isso ocorre pela padronização do consumo dos animais, maior eficiência de utilização da PDR, menores concentrações de nitrogênio sérico e aumento do aporte de PM (Rivera-

mendez et al., 2017; Manella e Cidrini, 2018). Quanto ao desempenho, não há diferença entre o uso isolado de tipos de taninos (hidrolizado ou condensado), ambos aumentam o desempenho, porém o uso associado de ambas as fontes aumentam as respostas, inclusive da redução de emissão de metano (Rivera-mendez et al., 2017; Aboagye et al., 2018; Koenig et al., 2018).

Os extratos de taninos possuem potencial para uso como aditivos moduladores da fermentação, sobretudo em condições onde maiores níveis de PM são requeridos, como animais em crescimento, situações onde o teor de proteínas solúveis é elevado, pastagens manejadas em baixas alturas e ou adubadas intensivamente (maior proporção de frações solúveis e de degradação acelerada da PB), casos onde a padronização do consumo é necessária, como em confinamentos, além de situações onde os níveis de inclusão de ureia na alimentação são elevados.

Assim, mesmo que em condições de seca, com forragem de baixo valor nutritivo e baixo nível de suplementação, as respostas quanto ao uso de aditivos sejam reduzidas (Carvalho et al., 2017), é possível que o uso de extratos de taninos em suplementos possa flexibilizar a inclusão de ureia, reduzindo o custo alimentar da dieta dos animais.

5. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado de acordo com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP – Campus de Jaboticabal – SP, com número de protocolo 006468/17.

5.1 Localização e clima

O estudo foi realizado na Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), Polo Regional da Alta Mogiana, localizada na cidade de Colina-SP. O clima da região é do tipo AW (segundo classificação de Köppen), representado por duas estações distintas, uma seca, de abril a setembro e outra chuvosa, de outubro a março, onde a temperatura média do mês mais quente é superior a 22°C e do mês mais frio superior a 18°C (Tabela 2). O solo é classificado como Latossolo Vermelho escuro, fase arenosa com topografia plana e de boa drenagem (EMBRAPA, 1999).

Tabela 2 – Dados climáticos durante as fases do experimento com novilhos Nelore recebendo suplementos com oferta de 3 g/kg do PC e diferentes níveis de inclusão de ureia com ou sem extratos de taninos (ET) em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu no período da seca.

Fase	Precipitação, mm	Dias com chuva	TMáx. °C	TMín. °C	Amplitude térmica
03/07 a 28/07 ¹	0	0	25,8	8,4	17,5
29/07 a 25/08 ²	10	4	28,4	11,7	16,6
26/08 a 22/09 ³	0	0	33,0	13,1	19,9
23/09 a 20/10 ⁴	55	7	33,0	16,6	16,4
21/10 a 17/11 ⁵	135	12	31,5	17,9	13,6

¹Adaptação; ²Período 1; ³Período 2; ⁴Período 3; ⁵Período 4; Tmax = temperatura máxima; Tmin = temperatura mínima. Dados: Estação meteorológica da Apta – Colina.

5.2 Caracterização da área, animais e períodos experimentais

A área experimental utilizada é composta pela forrageira *Urochloa brizantha* cv. Marandu, constituída de 16 piquetes de 1 ha cada, possibilitando lotações contínuas durante todo o período experimental. Todos os piquetes possuíam bebedouro tipo australiano e cocho para suplementação (espaçamento linear de 30 cm por animal).

O estudo foi dividido em dois experimentos, iniciando no dia três de julho de 2017, com duração de 137 dias, dividido em cinco períodos (adaptação de 25 dias e quatro períodos de avaliação de 28 dias). Para o experimento 1, foram utilizados 8 bovinos Nelore, machos castrados, com idade média de 20 meses e peso corporal médio de 293 kg \pm 5,6 kg, para avaliação dos parâmetros digestivos e fermentativos e diversidade da microbiota ruminal e, em cada período experimental, os dias 1º ao 16º foram destinados à adaptação dos animais aos tratamentos, do 17º ao 21º à adaptação aos indicadores externos (cromo e titânio), do 21º ao 24º foram realizadas as coletas de fezes para a avaliação de consumo de pasto e suplemento, 25º e 26º as coletas de urina e líquido ruminal para avaliação da população de protozoários, diversidade bacteriana ruminal e parâmetros ruminais, e dos dias 27º e 28º à coleta de sangue para posterior avaliação dos parâmetros sanguíneos. No experimento 2, foram utilizados 64 bovinos Nelore, machos não castrados, com idade média de 20 meses e peso corporal médio inicial de 294 kg \pm 15,2 kg, para avaliação do desempenho.

5.3 Tratamento e delineamento experimental

Todos os animais receberam suplemento proteico-energético (26% de proteína bruta), diariamente, ofertado na quantidade de 3 g/kg de peso corporal (Tabela 3). No experimento 1, oito bovinos Nelore fistulados no rúmen foram distribuídos em duplo quadrado latino 4 \times 4, em um esquema fatorial 2 \times 2. Os fatores incluíram: 1) baixa e alta inclusão de ureia no suplemento e 2) suplementação (7 g/kg de MS do suplemento) ou não de extratos de taninos (ET; Extrato Quebracho Colorado – Schinopsis Lorenzil; 70% de pureza, SilvaFeed Bypro®). Os tratamentos de alta inclusão de ureia foram formulados para que a ureia substituísse 50% da proteína verdadeira oriunda do farelo de soja em comparação ao de baixa inclusão de ureia. Nas variáveis população de protozoários e diversidade bacteriana ruminal foi utilizado apenas um quadrado latino.

No experimento 2, os animais foram aleatoriamente distribuídos nos 16 piquetes (4 piquetes por tratamento e 4 animais por piquete) os piquetes foram

considerados as unidades experimentais. O delineamento experimental utilizado foi em blocos completos ao acaso, onde o peso corporal inicial dos animais foi utilizado como critério de blocagem.

Os suplementos foram fornecidos diariamente às 08h00min da manhã. Durante todo o período experimental não houve sobras, o suplemento ofertado foi ingerido completamente até uma hora após o fornecimento em apenas uma visita ao cocho.

Tabela 3 - Composição e níveis de garantia dos suplementos utilizados durante o período experimental para os tratamentos com diferentes níveis de inclusão de ureia com ou sem extratos de taninos (ET) para novilhos Nelore em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu no período da seca.

Suplemento 3 g/kg PC		Baixa Ureia		Alta Ureia	
Ingredientes (MN)	Unidade	Sem ET	Com ET	Sem ET	Com ET
Farelo de soja	(g/kg)	273	273	134	134
Milho	(g/kg)	608	601	727	720
Ureia	(g/kg)	30	30	50	50
Bypro®	(g/kg)	0	7	0	7
Premix comercial ¹	(g/kg)	89	89	89	89
Níveis de garantia (MS)					
Matéria seca	(g/kg)	897	897	892	893
Matéria orgânica	(g/kg)	715	715	829	829
Proteína bruta	(g/kg)	261	260	263	262
Fibra em detergente neutro	(g/kg)	144	143	135	134
Extrato etéreo	(g/kg)	11	11	9	9
Carboidratos não fibrosos	(g/kg)	514	509	572	567
NDT	(g/kg)	706	700	690	684
NNP equivalente em PB	(g/kg)	84,3	84,3	140,5	140,5
Relação NNP/PB	(%)	32,3	32,4	53,5	53,6
PB oriunda do farelo de soja	(g/kg)	126,7	126,7	62,2	62,2

¹Premix contendo: 153,93 g/kg de Ca; 139,36 g/kg de P; 86,42 g/kg de Mg; 124,39 g/kg de S; 92,44 g/kg de Na; 1623,86 mg/kg de Cu; 1970,93 mg/kg de Mn; 4940,18 mg/kg de Zn; 73,99 mg/kg de I; 127,63 g/kg de Co; 51,85 g/kg de Se; 1752283,11 UI/kg de vit A; 328368,38 UI/kg de vit D; 8827,72 UI/kg de vit E.

PB = Proteína bruta; MN = Matéria natural; MS Matéria seca; NDT = Nutrientes digestíveis totais estimados; NNP = Nitrogênio não proteico; Bypro® = SilvaFeed Bypro® - *blend* de extratos de taninos condensados e hidrolisados, com 70% de pureza.

Os tratamentos de alta inclusão de ureia foram formulados para que a ureia substituísse 50% da proteína verdadeira oriunda da soja em comparação ao de baixa inclusão de ureia.

5.4 Método de pastejo

Foi adotado o método de pastejo em lotação contínua porém com taxa de lotação variável (Mott e Lucas, 1952), sob uma área previamente diferida por 120 dias. Para que a oferta de forragem fosse mantida igual em todos os tratamentos, foram adicionados ou retirados (método *put and take*) animais de ajuste nos piquetes, sendo estes contemporâneos e oriundos de um mesmo manejo em uma área anexa.

5.5 Avaliação do pasto

5.5.1 Calibração: Altura vs. Massa

Para determinação da massa de forragem foi utilizado o método da dupla amostragem (Sollenberger e Cherney, 1995), onde a massa era associada às leituras de altura do dossel (50 pontos de altura normal e comprimida) pelo uso do prato ascendente (*rising plate meter*). Em cada parcela eram selecionados três pontos de altura mínima, média e alta (determinados em função de ± 2 desvios padrões). Uma amostra de forragem de 0,25 m² de cada ponto selecionado era coletada ao nível do solo e posteriormente uma sub-amostra era seca em estufa a 55°C por 72 horas para determinação da matéria seca (MS) parcial. Depois, realizavam-se equações de regressão linear (Equação 1), através dos dados de massa e suas respectivas alturas, onde se estabelecia uma relação entre a altura do dossel e a massa de forragem:

$$MF (kg/ha) = a + b \times h (cm) \quad (1)$$

Onde: MF = massa de forragem em kg/ha de matéria seca, h = altura do dossel em cm, a = intercepto da regressão e b = coeficiente angular da regressão.

5.5.2 Composição morfológica do pasto

Para avaliação dos componentes quantitativos e estruturais do dossel forrageiro foram utilizadas as amostras colhidas na altura média de cada piquete, conforme descrito anteriormente. As amostras foram separadas manualmente em: material morto (folha morta e colmo morto), haste verdes (bainha foliar e colmo) e lâminas foliares verdes. Após separação, os componentes eram pesados e secos em estufa de 55°C por 72 horas para a obtenção da matéria seca parcial e proporção de cada componente no dossel forrageiro (Tabela 4).

5.5.3 Determinação do valor nutritivo da forragem

Foi realizado pastejo simulado para representação da fração consumida pelos animais. As amostras foram coletadas pelo método *hand-plucking* (De Vries, 1995) e secas em estufa de circulação de ar, a 55°C, por 72 horas e posteriormente moídas em peneira de malha com crivo de 1 mm. Foram determinados os teores de matéria seca (método 934.01), matéria mineral (método 942.05) extrato etéreo (método 920.39) e proteína bruta (método 978.04) de acordo com a AOAC (1995). Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados conforme a metodologia sequencial descrita por Robertson e Van Soest (1981), e lignina pelo método descrito por Goering e Van Soest (1970). A digestibilidade verdadeira *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi determinada conforme Van Soest e Robertson (1985) (Tabela 4).

Tabela 4 - Características quantitativas médias, composição morfológica e altura média da forragem nos piquetes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu; e características bromatológicas de amostras oriundas de pastejo simulado dos pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu pastejados durante o período experimental para os tratamentos com diferentes níveis de inclusão de ureia com ou sem extratos de taninos (ET).

Item ¹	Baixa Ureia		Alta Ureia		SEM	<i>P</i> -valor ²		
	Sem ET	Com ET	Sem ET	Com ET		Ureia	ET	UreiaxET
Características da forragem								
Massa, kg/há	3122	3632	3554	3555	381,0	0,575	0,423	0,424
Folha verde seca, kg/há	320,4	433,4	337,0	374,5	59,05	0,724	0,227	0,532
Altura, cm	23,23	26,97	27,64	27,85	13,69	0,850	0,887	0,900
Densidade, kg MS/m ³	1,318	1,332	1,291	1,254	0,050	0,219	0,785	0,534
Disponibilidade, kg MS/kgPC	2,166	2,339	2,283	2,289	0,187	0,726	0,349	0,384
Proporção de componentes, %								
Folha verde	12,07	13,67	12,60	12,54	1,95	0,879	0,698	0,672
Folha morta	29,85	24,96	26,64	26,70	1,74	0,682	0,189	0,179
Colmo verde	14,29	15,05	16,08	16,37	2,06	0,465	0,803	0,909
Colmo morto	43,80	46,32	44,67	44,39	3,44	0,834	0,656	0,579
Composição da forragem, g/kg de MS								
Matéria seca (MN)	561,6	548,7	547,1	554,0	14,60	0,751	0,836	0,498
Proteína bruta	61,08	58,60	56,98	59,39	2,17	0,432	0,988	0,256
FDN	738,2	745,0	739,7	732,2	6,90	0,284	0,943	0,181
FDA	396,6	404,7	398,0	396,8	7,21	0,548	0,524	0,388
FDNi	256,9	262,0	257,3	262,1	5,83	0,952	0,259	0,969
Lignina	5,54	5,68	5,90	5,52	0,16	0,540	0,447	0,118
Extrato etéreo	11,14	11,65	12,54	11,87	0,55	0,153	0,885	0,288
DIVMS	616,7	613,4	615,5	612,1	11,41	0,377	0,240	0,485

¹MS = matéria seca; MN = matéria natural; FDN = fibra insolúvel em detergente neutro; FDA = fibra insolúvel em detergente ácido; FDNi = fibra insolúvel em detergente neutro indigestível; DIVMS = digestibilidade in vitro da matéria seca.

²Obs: houve efeito de período nas variáveis apresentadas ($P < 0,05$), porém não houve interação entre períodos e fatores ou mesmo interação tripla ($P > 0,10$).

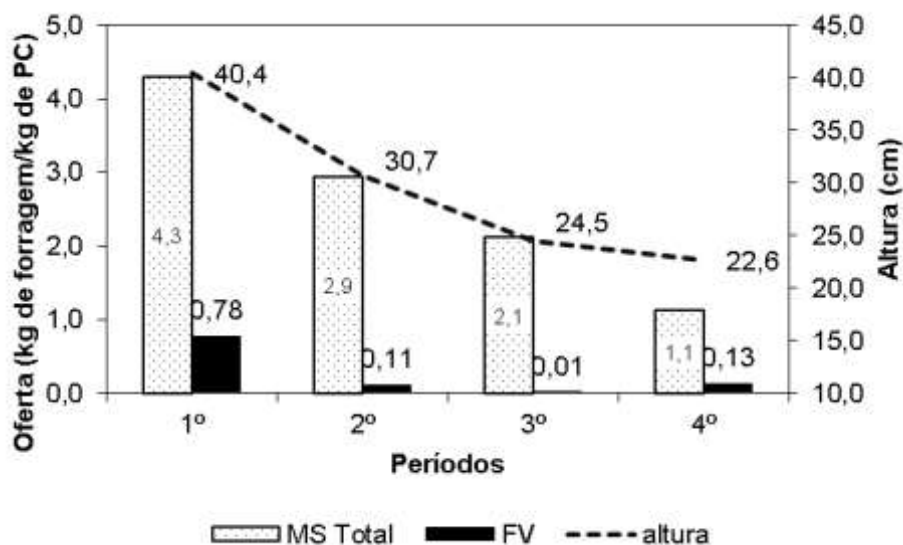


Figura 52 - Características quantitativas médias dos piquetes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu pastejados durante o período experimental. Houve efeito de período nas variáveis apresentadas ($P < 0,05$), porém não houve interação entre períodos e fatores ou mesmo interação tripla ($P > 0,10$). MS total = matéria seca total, em kg; FV = folha verde, em kg.

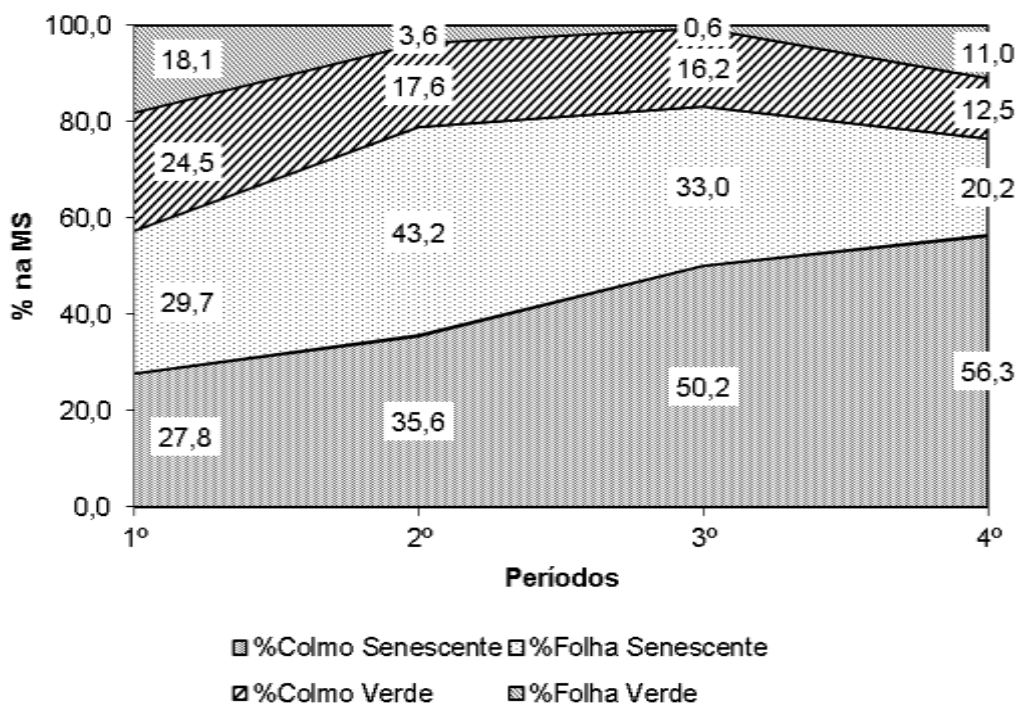


Figura 6 - Composição morfológica de forragem da altura média dos piquetes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu. Houve efeito de período nas variáveis apresentadas ($P < 0,05$), porém não houve interação entre períodos e fatores ou mesmo interação tripla ($P > 0,10$).

5.6 Consumo dos animais em pastejo

Diariamente, antes do fornecimento do suplemento, foram avaliados os cochos quanto às sobras do dia anterior. Foram realizados ajustes de oferta a cada final de período considerando a última pesagem dos animais.

No experimento 1, a excreção fecal e consumo de forragem foram avaliados, em todos os quatro períodos, como descrito a seguir:

Excreção fecal: Para estimativa da excreção fecal foi utilizado o indicador externo óxido de cromo (Cr_2O_3). O indicador foi inserido diretamente no rúmen na quantidade de 10 g por animal dia, às 13h00min, durante nove dias. As fezes dos animais foram coletadas cinco dias após início do fornecimento do indicador, para se obter uma excreção constante, durante quatro dias (uma vez ao dia) e em horários alternados: 16:00, 13:00, 10:00, 7:00 horas, respectivamente.

As fezes de cada animal foram pesadas, parcialmente secas (55°C , por 72 horas) e moídas em moinho com peneira de crivo de 2 mm. A concentração do marcador (óxido crômico) foi obtida por espectrometria de absorção atômica (Williams et al., 1962). A excreção fecal foi obtida segundo a metodologia descrita por Smith e Reid (1955).

Consumo individual de suplemento: Foi obtido através da média de consumo dos animais no piquete.

Consumo individual de forragem: Para a estimativa do consumo de matéria seca de forragem foi utilizado o marcador interno fibra insolúvel em detergente neutro (FDNi), obtido pelo pastejo simulado durante o período de coleta de fezes (diretamente no reto) dos animais (Casali et al., 2008).

Consumo individual de matéria seca: Obtido pelo somatório do consumo de forragem e pelo consumo de suplemento.

5.7 Parâmetros ruminais

Foram colhidas amostras representativas do conteúdo ruminal de cada animal via cânula em diferentes horários: 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 horas após suplementação em dois dias diferentes (25º dia = 0, 6, 12 e 18 horas; 26º dia = 3, 9, 15 e 21 horas), sendo utilizadas as amostras coletadas em todos horários para avaliação do N-NH₃, no entanto para pH e AGCC apenas os horários de 0, 6, 12 e 18 horas após alimentação foram utilizados. Após colheita, as amostras (200 mL por animal) foram filtradas em dupla camada de pano de algodão e utilizadas para a determinação do pH (DM-22, Digimed, São Paulo, Brasil). Posteriormente, duas alíquotas de 50 mL foram armazenadas em frascos plásticos contendo 1 mL de H₂SO₄ (1:1) cada e congeladas a -20 °C para análise de N-NH₃. O N-NH₃ foi determinado pelo método colorimétrico fenol-hipoclorito (Weatherburn, 1967). Duas alíquotas de 40 mL de líquido ruminal foram congeladas a -20 °C para análise dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) por meio de cromatografia gasosa (GCMS QP 2010 plus, Shimadzu®, Kyoto, Japan) usando coluna capilar (Stabilwax, Restek®, Bellefonte, EUA; 60 m, 0,25 mm ø, 0,25 µm crossbond carbowax polyethylene glycol) (AGCC totais, acetato, propionato, butirato, valerato e isovalerato) (Palmquist et al., 1971).

5.8 Parâmetros sanguíneos

Foram realizadas quatro coletas de sangue nos horários: 0, 2, 4 e 6 horas após suplementação em dois dias diferentes (27º = 0 e 4 horas; 28º = 2 e 6 horas), puncionando veia jugular (sangue venoso) utilizando tubos de vácuo com gel separador (BD Vacutainer® SST II Advance). Posteriormente, as amostras foram centrifugadas (3000 rpm por 10 minutos). O soro foi retirado e armazenado a temperatura de -20°C. No soro foram determinados os teores de ureia e glicose, por meio de kits comerciais de diagnóstico (Labtest Diagnostica S.A., Lagoa Santa, Minas Gerais, Brazil), utilizando-se parâmetros enzimáticos colorimétricos com

leituras realizadas por analisador automatizado de bioquímica do sangue (Labmax Pleno, Labtest Diagnóstico S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil).

5.9 População de Protozoários

A identificação e a quantificação dos gêneros de ciliados foram feitas em câmara Sedgewick-Rafter, (Dehority, 1984), sendo que de cada amostra homogeneizada foi pipetado 1 mL de conteúdo e transferido para tubos de ensaio, onde foram acrescentadas três gotas de lugol, em substituição ao verde brilhante conforme com a modificação proposta por D'Agosto e Carneiro (1999). Após 15 minutos o conteúdo recebia a adição de 9 mL de glicerina a 30%. Para proceder a quantificação, de cada tubo de ensaio foi pipetado 1 mL do conteúdo para preencher a câmara de Sedgewick-Rafter. Utilizando-se uma grade de contagem em uma das oculares, foram quantificados os ciliados presentes em 50 campos e posteriormente, após rotação da câmara em 180°, mais 50 campos. O cálculo do número total de ciliados por mililitro de conteúdo foi feito multiplicando-se os valores encontrados por 80 e por 20. Tais valores correspondem à superfície total da câmara de contagem e à diluição (Dehority, 1984).

5.10 Diversidade microbiana ruminal

Foram coletadas amostras para análise da diversidade bacteriana do rúmen no 26º dia de cada período experimental, nos animais canulados, com amostras compostas de fração sólida + fração líquida da digesta três horas após o fornecimento diário do suplemento para os animais, sendo aproximadamente 50 g de conteúdo da região medial e ventral do rúmen. Após a coleta, o material foi mantido congelado à -80°C, em ultrafreezer, até o momento do processamento das amostras, aproximadamente 6 meses.

As amostras foram processadas para a obtenção do pellet bacteriano conforme descrito por Granja-Salcedo et al. (2016). A extração do DNA foi realizada

utilizando 200 mg do pellet microbiano obtido e o kit de extração Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Miniprep, recomendado por Henderson et al. (2013), seguindo as instruções do fabricante e utilizando o FastPrep®-24 Classic Instrument (MP biomedical, FR) para a etapa de lise celular. Logo após extração do material genômico, o rendimento do DNA extraído foi avaliado por espectrofotometria (NanoDrop® ND-1000 Spectrophotometer, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) e fluorimetria (Qubit® 3.0, kit Qubit® dsDNA Broad Range Assay Kit, Life Technologies). A pureza do DNA metagenômico foi avaliada por espectrofotometria a partir das relações $A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ e $A_{260\text{nm}}/A_{230\text{nm}}$. Finalmente, a integridade do DNA foi verificada em gel de agarose 0,8% corado com SYBR™ Gold Nucleic Acid Gel Stain (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA).

A amplificação da região hipervariável V4 /V5 do gene 16S rRNA bacteriano foi realizada mediante uma reação de PCR utilizando-se o primer forward 515F (5'-GTGNCAGCMGCCGCGGTAA-3') e o reverse 926R (5'-CCGYCAATYMTTTRAGTTT-3') utilizando-se 20 ng de DNA total de cada amostra, e 1,25 mM de $MgCl_2$; 200 μM de dNTP; 1,0 U da enzima Taq DNA polimerase (Invitrogen); solução tampão para reação de PCR [1x]; 10 pmol de cada oligonucleotídeo iniciador e H_2O para um volume final de 20 μl .

A PCR foi conduzida nas seguintes condições: 95°C por 3 minutos, 30 ciclos com desnaturação a 95°C por 30 segundos, pareamento a 53,8°C por 30 segundos, extensão a 72°C por 45 segundos e extensão final a 72°C por 10 minutos. As reações de PCR foram realizadas em duplicata e reunidas equimolarmente para minimizar o viés durante a reação. A pureza dos produtos da PCR, foi verificada em gel de agarose 1% e o tamanho dos fragmentos foi estimado por comparação com marcador 1 kb plus DNA ladder (Invitrogen). Em seguida, os fragmentos de PCR foram purificados utilizando o Kit Zymoclean™ Gel DNA Recovery, seguindo as instruções do fabricante.

O sequenciamento foi realizado na facility, no departamento de tecnologia da FCAV/UNESP no equipamento Illumina MiSeq® utilizando o kit MiSeq Reagent v2 (2x250pb) (Illumina®, EUA).

Os dados obtidos do sequenciamento foram processados por meio do QIIME software package (Caporaso et al., 2010). Inicialmente foram removidos os

adaptadores usando Scythe 0.991 (<https://github.com/vsbuffalo/scythe>) e Cutadapt 1.7.1. Foram selecionadas para a leitura reads acima de 250 pb e com média > 25 na qualidade Phred e as leituras duplicadas foram removidas usando o programa Prinseq 0.20.4. As leituras foram filtradas e determinadas as unidades taxonômicas operacionais (OTUs). O algoritmo Usearch foi usado para agrupar as leituras em OTUs com um corte de 99% de semelhança e para atribuir a taxonomia foi usando o Ribosomal Database Project (RDP) version 11. As sequências bacterianas foram demarcadas e as quimeras suspeitas foram removidas utilizando a função OTUpipe dentro do QIIME (Caporaso et al., 2010). Também, foram calculados os estimadores de riqueza e os índices de alpha e beta diversidade.

5.11 Avaliação do desempenho animal

O desempenho dos animais do experimento 2 foi avaliado pelo ganho médio diário (GMD, kg/dia) determinado pela diferença entre o peso corporal em jejum final (PCf; restrição de sólidos e líquidos por 16 horas) e o peso corporal em jejum inicial (PCi) dividido pelo total de dias, em cada um dos períodos experimentais. O ganho por área (GA, kg/ha) também foi avaliado, conforme exposto na Equação 2, considerando o GMD multiplicado pelo número de animais e pelo tempo de permanência dos animais em determinada área.

(2)

$$GA \text{ (kg/ha)} = \frac{GMD \text{ (kg/dia)} \times \text{número de animais} \times \text{número de dias}}{\text{área do piquete (ha)}}$$

5.12 Análises estatísticas

No experimento 1, os dados foram analisados em um delineamento em quadrado latino, o modelo incluiu os fatores ureia e tanino e suas interações, horário de coleta e suas interações como efeito fixo, efeito de quadrado, período, animal, animal dentro de quadrado como efeitos aleatórios.

$$Y_{ijklm} = \mu + q_i + a_j + p_k + U_l + T_m + (U \times T)_{lm} + e_{ijklm}$$

Em que: Y_{ijklm} = observação dos suplementos com baixa ou alta inclusão de ureia l e inclusão ou não de tanino m, no quadrado i, no animal j, no período k; μ = média geral; q_i = efeito do quadrado i; a_j = efeito do animal j; p_k = efeito do período k; U_l = inclusão de ureia no suplemento l (baixa ou alta); T_m = taninos no suplemento m (inclusão ou não); $U_l \times T_m$ = interação entre inclusão de ureia e tanino lm; e_{ijklm} = erro aleatório associado a cada observação. Os dados obtidos ao longo do tempo (amônia, pH ruminais e ácidos graxos de cadeia curta) foram analisados como medidas repetidas sendo acrescentados os efeitos de tempo e a interação entre tempo e os fatores.

Os dados de riqueza, diversidade e abundância ruminal de bactérias e *Archaeas* foram comparados entre os níveis de inclusão de ureia e a inclusão ou não de extratos de taninos nos suplementos pelo teste de Friedman pós-teste de Dunns. Os dados de abundância ruminal de bactérias e *Archaeas* foram submetidos à análise de componentes principais tendo como fator o nível de ureia, inclusão de taninos e suas interações, utilizando o pacote rgl do R (R Core Team, 2015).

No experimento 2, os dados foram analisados em um delineamento em blocos casualizados, utilizando o procedimento MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC), considerando os fatores ureia e tanino e suas interações como efeito fixo e o bloco como efeito aleatório.

$$Y_{ijk} = \mu + b_i + U_j + T_k + (U \times T)_{jk} + e_{ijk}.$$

Onde: Y_{ijk} = observação dos suplementos com baixa ou alta inclusão de ureia j e inclusão ou não de tanino k , no bloco i ; μ = média geral; b_i = efeito de bloco i ; U_j = inclusão de ureia no suplemento j (baixa ou alta); T_k = taninos no suplemento k (inclusão ou não); $U_j \times T_k$ = interação entre inclusão de ureia e tanino jk ; e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

Os dados obtidos ao longo do tempo foram analisados como medidas repetidas sendo acrescentados os efeitos de tempo e a interação entre tempo e fatores no modelo. As matrizes para cada variável foram escolhidas de acordo com o critério BIC (Bayesian Information Criteria) com seu menor valor. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o PROC MIXED do programa SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC), exceto para diversidade bacteriana ruminal que se utilizou o software R versão 3.5.1 (R Core Team, 2015), com prévia comprovação dos supostos matemáticos de distribuição normal (Teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade das variâncias (Teste de Bartlett). O nível de significância foi declarado a 5% de probabilidade e tendência explorada de 5 a 10%.

6. RESULTADOS

6.1 Consumo e digestibilidade

Não houve interação entre os fatores para o consumo dos animais ($P \geq 0,77$). O consumo de matéria seca (MS; $P \geq 0,51$), matéria orgânica (MO; $P \geq 0,52$), proteína bruta (PB; $P \geq 0,63$) e fibra insolúvel em detergente neutro (FDN; $P \geq 0,49$) foram semelhantes entre os tratamentos. Também não houve interação entre os fatores para a digestibilidade dos parâmetros avaliados ($P \geq 0,24$). A digestibilidade da MS ($P \geq 0,23$), MO ($P \geq 0,16$) e FDN ($P \geq 0,50$) também não foram influenciadas pela inclusão ou não de ET e as diferentes inclusões de ureia no suplemento (Tabela 5). Houve tendência de aumento, em cerca de 10,0%, na digestibilidade da PB com a inclusão de ET (607,5 vs. 552,1 g/kg; $P = 0,06$).

Tabela 5 - Consumo e digestibilidade aparente de novilhos Nelore recebendo suplementos com oferta de 3 g/kg do PC com diferentes níveis de inclusão de ureia com ou sem extratos de taninos (ET) em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu no período da seca.

Itens	Baixa Ureia		Alta Ureia		SEM	<i>P-valor</i>		
	Sem ET	Com ET	Sem ET	Com ET		Ureia	ET	Ureia xET
Consumo total, kg								
Matéria seca	5,96	6,57	6,03	6,37	0,737	0,922	0,509	0,848
Matéria orgânica	5,05	5,60	5,23	5,50	0,645	0,953	0,519	0,823
Proteína bruta	0,559	0,567	0,532	0,564	0,109	0,732	0,625	0,773
FDN	4,00	4,50	4,05	4,34	0,560	0,922	0,485	0,845
Digestibilidade aparente, g/kg								
Matéria seca	522,8	546,6	547,7	552,2	41,26	0,234	0,269	0,444
Matéria orgânica	472,0	495,6	495,2	507,1	32,25	0,168	0,159	0,631
Proteína bruta	530,6	601,1	573,5	613,8	101,1	0,327	0,060	0,592
FDN	538,4	562,8	567,1	555,0	41,82	0,495	0,689	0,242

FDN = fibra insolúvel em detergente neutro.

6.3 Parâmetros ruminais

Não foram verificados efeitos de ET, ureia ou interação ET x ureia ($P \geq 0,14$) sobre a produção total de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC Total), proporções molares de acetato, propionato, butirato e valerato, relação acetato:propionato e, ainda, nitrogênio amoniacal no rúmen (NAR; Tabela 6). Porém, o pH sofreu redução ($P = 0,05$) com a inclusão de ET nos suplementos.

Todas as variáveis sofreram influência do tempo de amostragem após suplementação, exceto a proporção molar de valerato ($P = 0,16$). Adicionalmente, o NAR sofreu interação entre ureia x tempo ($P < 0,01$; Figura 14 - A), com valores mais elevados 6 horas após a suplementação com alta ureia comparada à baixa ureia. O pH apresentou tendência de interação entre ureia x tempo ($P = 0,06$; Figura 14 - C), sendo menor as 6 horas pós suplementação com baixa ureia. A relação acetato:propionato mostrou tendência de redução ($P = 0,08$), com menores valores nos horários de 12 e 18 horas após a suplementação com uso de ET (Figura 14 - E).

Houve tendência de interação ET × tempo para a proporção molar de butirato ($P = 0,06$), com elevação nos horários de 12 e 18 horas após a suplementação nos grupos que receberam o ET (Figura 14 - B). Adicionalmente, a proporção molar de isovalerato apresentou uma tripla interação entre ureia × ET × tempo ($P = 0,05$; Figura 14 - C), onde o isovalerato se elevou nos horários de 12 e 18 horas após suplementação com a inclusão de ET em baixa ureia. Porém, a elevação da proporção molar de isovalerato foi antecipada, 6 horas após suplementação, quando a inclusão de ET ocorreu em suplementos de elevada inclusão de ureia.

Tabela 6 – Parâmetros de fermentação ruminal em diferentes horários após suplementação de novilhos Nelore recebendo suplementos com oferta de 3 g/kg do PC com diferentes níveis de inclusão de ureia e com ou sem extratos de taninos (ET) em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu no período da seca.

	Baixa Ureia		Alta Ureia		SEM	<i>P-valor</i>						
	Sem ET	Com ET	Sem ET	Com ET		Ureia	ET	Tempo	UreiaxET	Ureia xTempo	ETxTempo	UreiaxETxTempo
AGCC Total, mM	96,7	96,5	96,6	95,7	5,43	0,840	0,825	0,067	0,863	0,117	0,469	0,633
AGCC, mol/100												
Acetato	67,2	66,7	66,9	65,3	0,98	0,276	0,177	<0,01	0,501	0,542	0,563	0,611
Propionato	14,6	14,5	14,1	15,2	0,67	0,847	0,450	<0,01	0,329	0,715	0,257	0,601
Butirato	6,87	7,49	7,31	7,88	0,79	0,383	0,234	0,012	0,955	0,242	0,064	0,416
Valerato	0,72	0,65	0,74	0,88	0,18	0,478	0,845	0,161	0,527	0,631	0,539	0,508
Isobutirato	9,31	9,32	9,62	9,53	0,62	0,335	0,878	<0,01	0,851	0,634	0,557	0,477
Isovalerato	1,26	1,38	1,32	1,43	0,15	0,403	0,085	<0,01	0,912	0,051	0,050	0,052
Acet : Prop	4,62	4,65	4,78	4,50	0,21	0,986	0,521	<0,01	0,447	0,666	0,076	0,773
NAR, mg/dL	3,98	4,65	4,65	5,55	0,66	0,144	0,144	<0,01	0,822	<0,01	0,231	0,696
pH	6,52	6,48	6,57	6,48	0,15	0,372	0,050	<0,01	0,310	0,056	0,241	0,630

Acet : Prop = relação acetato : propionato.

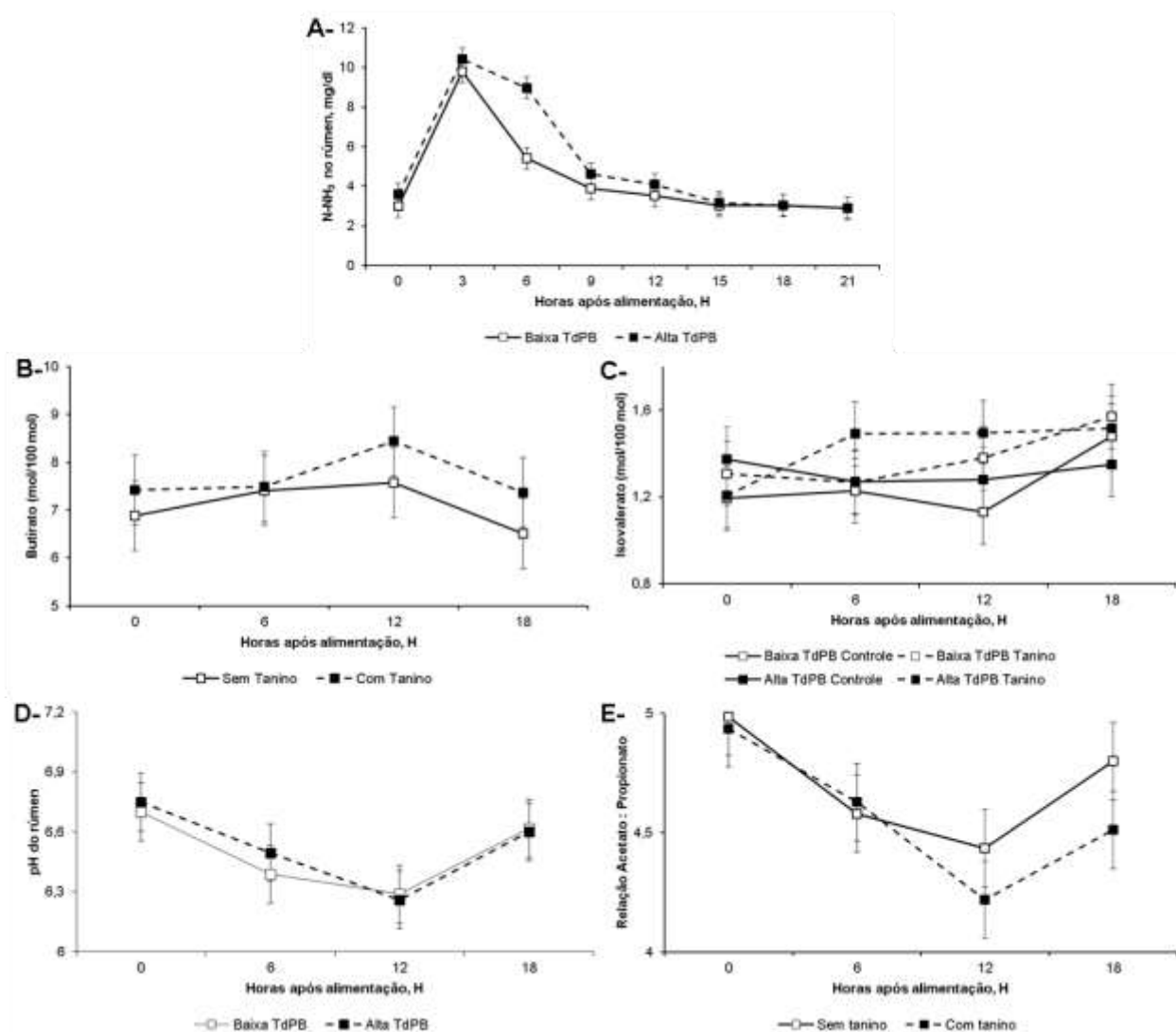


Figura 74 – A) Concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) para o fator nível de inclusão de ureia; **B)** proporção molar de butirato para o fator extratos de taninos (ET); **C)** proporção molar de isovalerato para nível de inclusão de ureia com presença ou não de ET; **D)** valores de pH para o fator inclusão de ureia; e **E)** Relação acetato:propionato para o fator ET de amostras de líquido ruminal coletados em diferentes horários após suplementação de novilhos Nelore recebendo suplementos com oferta de 3 g/kg do PC com diferentes níveis de inclusão de ureia com ou sem ET em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu no período da seca.

6.4 Metabólitos sanguíneos

A ureia no soro apresentou tendência de aumento para os tratamentos com a alta concentração de ureia, com incremento de 10,0% em seus valores (51,8 vs. 47,1 mg/dL; $P = 0,08$). Os valores observados para glicose foram semelhantes entre os tratamentos ($P \geq 0,49$; Tabela 7).

Tabela 7 - Concentração de ureia no soro e glicose do sangue de novilhos Nelore recebendo suplementos com oferta de 3 g/kg do PC com diferentes níveis de inclusão de ureia com ou sem extratos de taninos (ET) em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu no período da seca.

Itens	Baixa Ureia		Alta Ureia		SEM	<i>P</i> -valor						
	Com ET	Sem ET	Com ET	Sem ET		Ureia	ET	Tempo	Ureia×ET	Ureia×Tempo	ET×Tempo	Ureia×ET×Tempo
Ureia no soro, mg/dL	46,8	47,4	52,3	51,3	3,98	0,079	0,932	<0,01	0,768	0,375	0,563	0,587
Glicose, mg/dL	60,3	59,0	57,3	58,7	3,43	0,487	0,966	0,710	0,566	0,659	0,717	0,772

6.5 População de protozoários

A contagem da população total de protozoários revelou valores médios de $21,6 \times 10^5$ protozoários/mL, não apresentando diferenças entre os tratamentos ($P \geq 0,18$). A estratificação entre os gêneros também não revelou efeitos dos tratamentos sobre a população de *Entodinium*, *Dasytricha*, *Isotricha*, *Charonina*, *Metadinium*, *Ostracodinium*, *Eudiplodinium* ($P \geq 0,18$; Tabela 8).

Tabela 8 – Contagem total e composição (por mL de conteúdo ruminal) da população de protozoários ciliados de novilhos Nelore recebendo suplementos com oferta de 3 g/kg do PC com diferentes níveis de inclusão de ureia com ou sem extratos de taninos (ET) em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu no período da seca.

Protozoários, $\times 10^5$ /mL	Baixa Ureia		Alta Ureia		SEM	<i>P</i> -valor		
	Sem ET	Com ET	Sem ET	Com ET		Ureia	ET	Ureia \times ET
Total	21,7	23,3	21,3	19,9	1,96	0,185	0,922	0,267
<i>Entodinium</i>	5,20	5,20	5,40	5,14	0,23	0,650	0,405	0,387
<i>Dasytricha</i>	4,30	4,28	4,32	4,33	0,24	0,769	0,959	0,933
<i>Isotricha</i>	4,33	4,55	4,43	4,50	0,24	0,803	0,179	0,503
<i>Charonina</i>	3,19	3,93	2,99	2,64	0,83	0,410	0,821	0,538
<i>Metadinium</i>	1,92	2,30	2,38	1,89	0,94	0,973	0,941	0,545
<i>Ostracodinium</i>	3,23	3,02	2,80	1,93	0,93	0,225	0,367	0,564
<i>Eudiplodinium</i>	1,31	1,85	1,79	1,75	0,67	0,774	0,706	0,665

6.6 Diversidade microbiana no rúmen

O sequenciamento das amostras para diversidade bacteriana ruminal, revelou em média 44.341 sequências por amostra, totalizando 709.456 sequências a partir de 16 amostras. Foram identificadas 2.983 unidades taxonômicas operacionais (OTUs) com uma confiabilidade > 99%.

Os índices de riqueza Ace e Chao1 foram influenciados pela inclusão de ET ($P < 0,05$; Friedman), sendo superiores quando os animais foram suplementados com a presença de ET (Figura 15). Não houve efeito dos fatores ou interação entre

eles para o índice de diversidade Shannon Wiener ($P > 0,05$; Friedman); porém, a inclusão de ET nos suplementos reduziu os valores do índice Simpson ($P < 0,05$; Friedman; Figura 15). Não foi observado efeito da ureia sobre os índices de riqueza e diversidade.

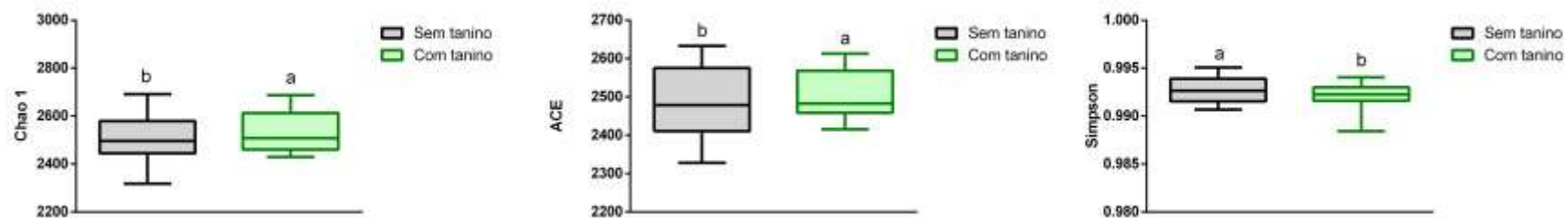


Figura 15 - Índices de riqueza (Chao1 e ACE) e estimador de diversidade (Simpson) do líquido ruminal de novilhos Nelore suplementados, com oferta de 3 g/kg do PC, com inclusão ou não de extratos de taninos (ET) em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu no período da seca.

Foi identificado 1 Filo no domínio *Archeas* (Euryarchaeota), que não sofreu efeito dos fatores expostos ($P > 0,05$; Friedman). Já no domínio bactéria, foram identificados 16 Filos (Tabela 9), destacando-se a elevada abundância do grupo de OTU's Unassigned (47,5%), que foi influenciado pelo nível de inclusão de ureia, com aumento para o nível de inclusão elevado. A inclusão de ET no suplemento proporcionou maior abundância de SR1 e menor abundância de Firmicutes ($P < 0,05$; Friedman).

Além desses, os Filos Other e Actinobacteria foram influenciados pelos fatores ureia e ET ($P < 0,05$; Friedman), sendo mais abundantes para suplementos com inclusão de ET e também para os que possuíam maior inclusão de ureia (Tabela 9). O mesmo ocorreu para os Filos Tenericutes, Spirochaetes, Lentisphaerae e Fibrobacteres, porém, sendo mais abundantes para a maior inclusão de ureia e para ausência de ET nos suplementos ($P < 0,05$; Friedman). Em relação à abundância de Bacteroidetes também houve influência dos fatores ureia e ET ($P < 0,05$; Friedman), sendo elevadas pela inclusão de ET e reduzidas pela elevação da ureia nos suplementos. Ainda, houve interação tripla para a abundância de Verrucomicrobia ($P < 0,05$; Friedman), sendo mais elevada em inclusão de ET em baixa ureia, seguidos de inclusão de ET em alta ureia e baixa ureia sem inclusão de ET e, por último, em alta ureia sem a inclusão de ET no suplemento (Tabela 9).

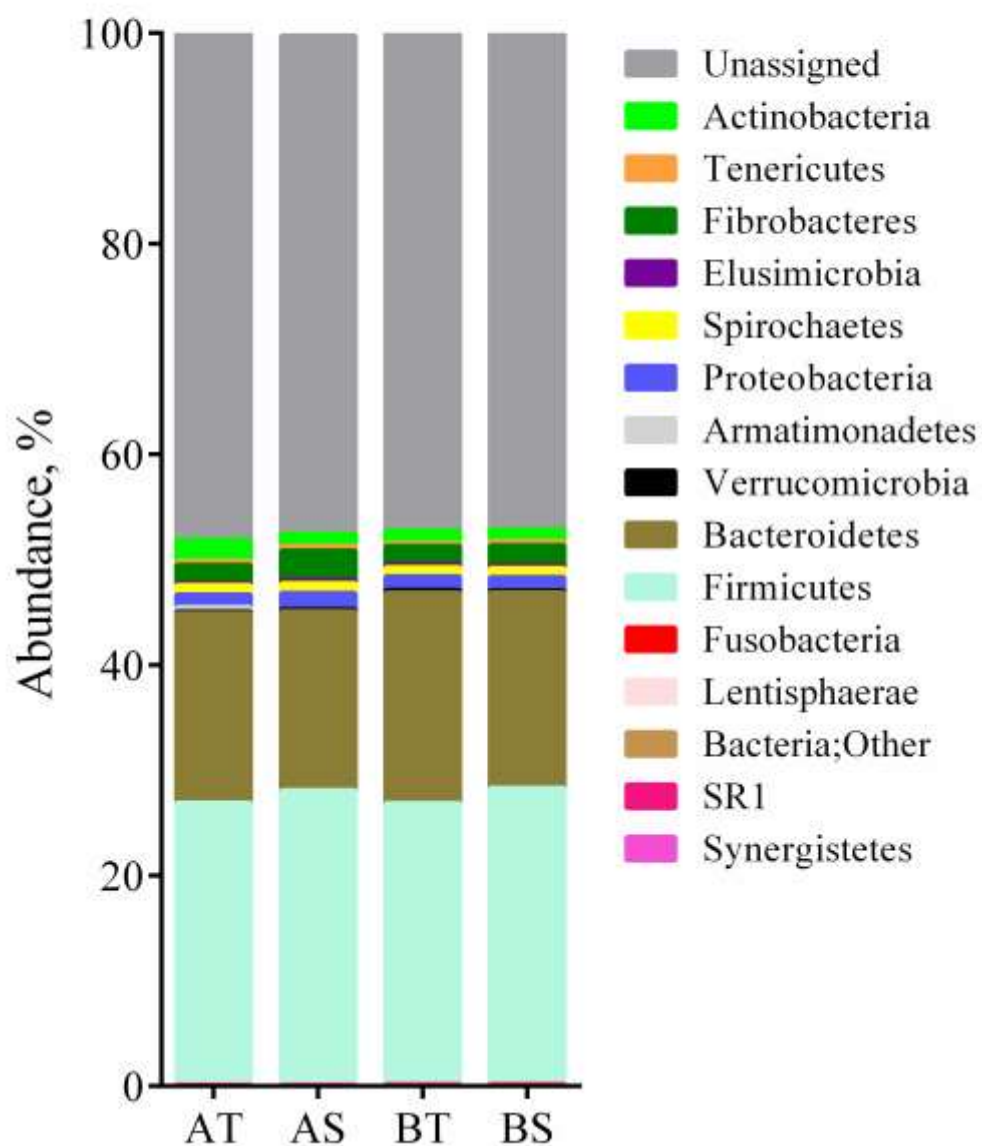


Figura 86 - Abundância bacteriana ruminal no nível de filo (%) de novilhos Nelore recebendo suplementos com oferta de 3 g/kg do PC com diferentes níveis de inclusão de ureia e com ou sem extratos de taninos (ET) em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu no período da seca.

Tabela 9 - Mediana e rango interquartil da abundância bacteriana ruminal no nível de filo (%) de novilhos Nelore recebendo suplementos com oferta de 3 g/kg do PC com diferentes níveis de inclusão de ureia e com ou sem extratos de taninos (ET) em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu no período da seca.

Domínio Filo		Baixa Ureia		Alta Ureia		<i>P</i> -valor ²		
		Sem ET	Com ET	Sem ET	Com ET	Ureia	ET	Ureia x ET
Bactérias	Unassigned	47,86 ± 2,89	47,63 ± 4,78	46,33 ± 4,53	49,67 ± 4,56	<0,05	NS	NS
	Other ¹	2,26 ± 1,13	7,89 ± 29,32	6,77 ± 5,64	6,77 ± 53,56	<0,05	<0,05	NS
	Verrucomicrobia	0,09 ± 0,03ab	0,14 ± 0,02a	0,08 ± 0,03b	0,08 ± 0,03ab	<0,05	<0,05	<0,05
	Tenericutes	0,22 ± 0,05	0,14 ± 0,06	0,17 ± 0,13	0,18 ± 0,10	<0,05	<0,05	NS
	Synergistetes	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,03	0,03 ± 0,01	NS	NS	NS
	SR1	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,02	NS	<0,05	NS
	Spirochaetes	0,78 ± 0,53	1,03 ± 0,24	0,96 ± 0,53	0,78 ± 0,34	<0,05	<0,05	NS
	Proteobacteria	0,64 ± 0,11	0,65 ± 0,09	0,83 ± 0,23	0,61 ± 0,03	NS	NS	NS
	Lentisphaerae	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,06 ± 0,06	0,05 ± 0,02	<0,05	<0,05	NS
	Fusobacteria ¹	67,66 ± 242,44	5,64 ± 57,51	2,26 ± 37,21	1,13 ± 69,35	NS	NS	NS
	Firmicutes	26,49 ± 3,96	25,88 ± 5,39	27,03 ± 5,09	26,86 ± 3,45	NS	<0,05	NS
	Fibrobacteres	1,01 ± 0,43	0,83 ± 0,19	1,18 ± 0,79	0,85 ± 0,15	<0,05	<0,05	NS
	Elusimicrobia	0,14 ± 0,03	0,15 ± 0,04	0,15 ± 0,01	0,08 ± 0,04	NS	NS	NS
	Bacteroidetes	16,10 ± 5,21	16,43 ± 6,54	17,29 ± 3,58	15,33 ± 4,51	<0,05	<0,05	NS
	Armatimonadetes ¹	4,51 ± 95,85	72,17 ± 26,86	7,89 ± 51,87	58,64 ± 137,01	NS	NS	NS
	Actinobacteria	5,00 ± 0,07	8,00 ± 0,04	9,75 ± 0,09	11,25 ± 0,13	<0,05	<0,05	NS
	Archaea	Euryarchaeota	3,94 ± 0,55	4,42 ± 0,85	4,97 ± 0,48	4,24 ± 1,21	NS	NS

¹ valores expressos em exponencial x 10⁻⁴; ²*P*-valor com base no teste de Friedman.

No total, foram identificados 124 gêneros, sendo que, destas 120 eram de bactérias e quatro de *Archeas*. Ao todo, 72 dos generos encontrados tiveram suas abundâncias influenciadas pelos fatores que compuseram os tratamentos (Friedman $P < 0,05$; Figura 16).

Explorando a análise de componentes principais (PCA), testando para os fatores ET, ureia e interação ET x ureia, selecionou-se 19 microrganismos que explicaram 66,4% da variação dos dados e que tiveram efeito apenas para os diferentes níveis de inclusão de ureia. Sendo associados à alta ureia e ubicados no componente principal 1 *Methanobacterium*, *Methanimicrococcus*, *Mogibacterium*, *Butyrivibrio*, *Clostridium_XIVb*, *Pseudobutyrvibrio*, *Clostridiales_Other*, *Dehalobacter*, *Acidaminococcaceae_Other*, *Selenomonas*, *Synergistes* e *Anaeroplasma*; e a os gêneros *Prevotella*, *Clostridiales_Incertae_Sedis_XI_Other*, *Lachnospiraceae_Other*, *Ruminococcaceae_Other*, *Ruminococcus*, *Firmicutes_Other*, e *Aeromonadales_Other*, associados à baixa ureia e ubicados no componente principal 2 (Figura 17).

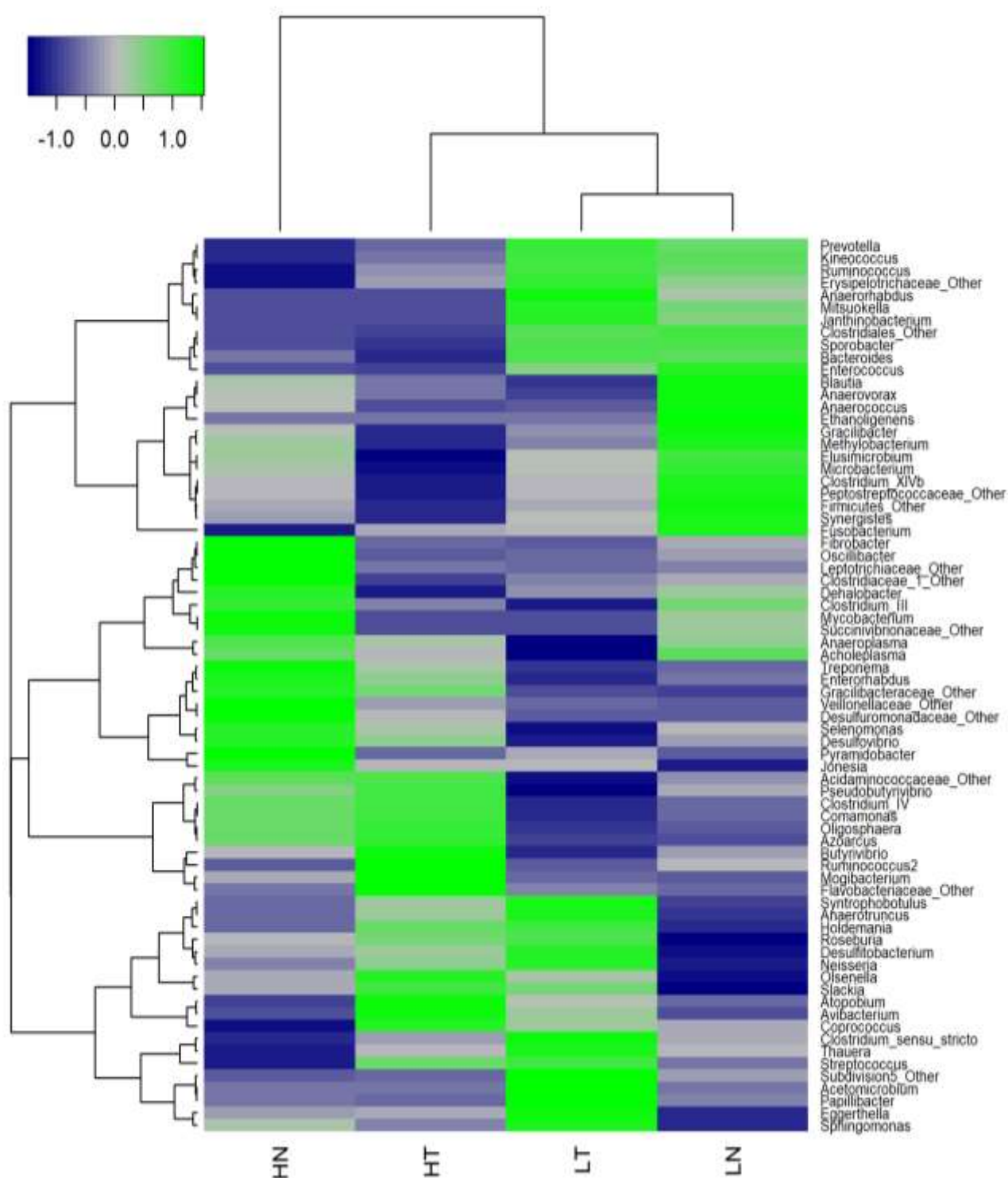


Figura 96 – Heatmap dos gêneros de bactérias do rúmen de novilhos Nelore suplementados com oferta de 3 g/kg do PC com alta (H) ou baixa (L) taxa de degradação da proteína e/ou com (T) ou sem (N) taninos em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu no período da seca.

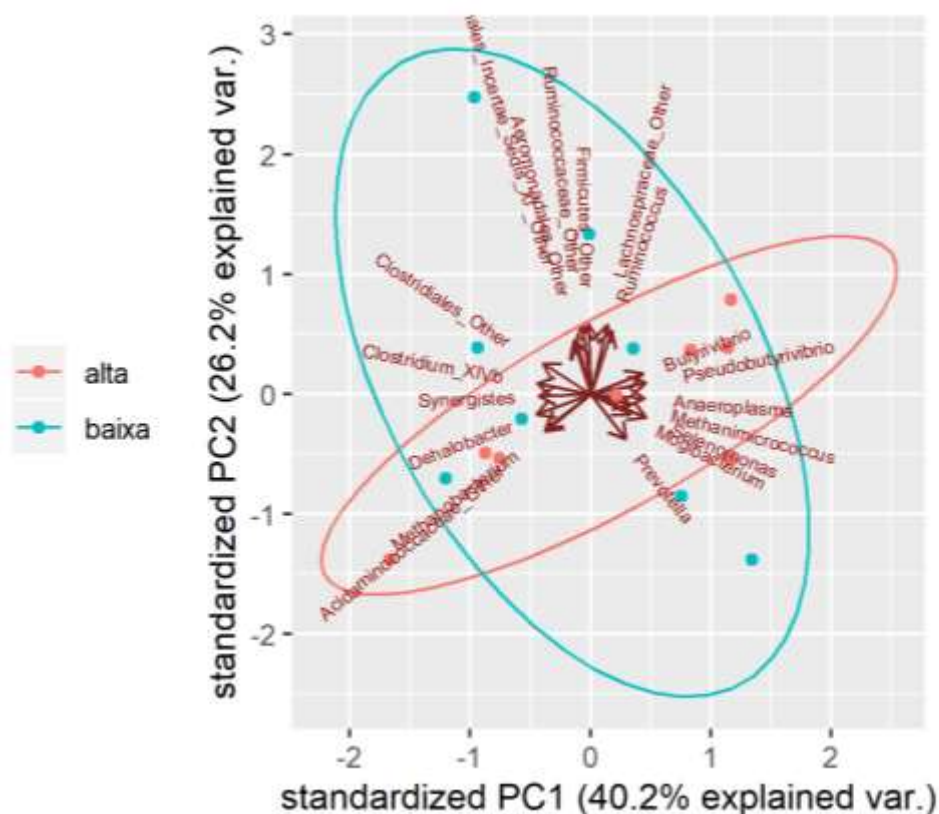


Figura 17 - Análise de componentes principais (PCA), explorando as variações da composição microbiana de novilhos Nelore recebendo suplementos com oferta de 3 g/kg do PC com alta (vermelho) e baixa (verde) inclusão de ureia, em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu no período da seca.

6.7 Desempenho

Não houve interação entre os fatores para o desempenho dos animais ($P \geq 0,38$). Não houve efeito dos diferentes níveis de inclusão de ureia e do uso ou não dos extratos de taninos (ET) sobre o ganho médio diário dos animais (GMD; $P \geq 0,21$), peso final (PCf; $P \geq 0,49$), taxa de lotação (TL; $P \geq 0,24$) ou ganho por área (GA; $P \geq 0,21$), com as respectivas médias de 0,290 kg/dia, 338 kg de PC, 3,49 UA/ha e 180 kg/ha (Tabela 10).

Tabela 10 - Desempenho de novilhos Nelore recebendo suplementos com oferta de 3 g/kg do PC com diferentes níveis de inclusão de ureia com ou sem extratos de taninos (ET) em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu no período da seca.

Item ¹	Baixa Ureia		Alta Ureia		SEM	P-valor		
	Sem ET	Com ET	Sem ET	Com ET		Ureia	ET	UreiaxET
PCi, kg	294	294	294	295	15,2	0,490	0,751	0,418
PCf, kg	339	338	336	340	9,67	0,908	0,490	0,380
GMD, kg/dia	0,28	0,30	0,28	0,30	0,05	0,953	0,344	0,810
GA, kg/ha	181	183	169	188	21,5	0,767	0,333	0,448
TL, UA/ha	3,27	3,48	3,61	3,60	0,36	0,241	0,607	0,553

¹PCi = Peso corporal inicial; PCf = Peso corporal final; GMD = Ganho médio diário; TL = Taxa de lotação; UA = Unidade animal referente a 450 kg de peso corporal.

7. DISCUSSÃO

A suplementação no período da seca visa corrigir a deficiência global de proteína do pasto, aumentando o consumo e desempenho dos animais (Detmann et al., 2009). Porém, a composição do suplemento influencia a resposta à suplementação, sendo a inclusão de ureia um dos principais fatores de regulação e alteração do padrão de consumo, como maior número de visitas ao cocho, por consequência, pode reduzir o desempenho (Visek, 1984; Moraes et al., 2009; Fernandes et al., 2016). Pois, a inclusão elevada de ureia pode acarretar em redução do consumo de suplemento, através do reflexo negativo condicionado gerado pela rápida fermentação da ureia no rúmen e elevação da absorção de N-NH₃ no rúmen que, em excesso, irá causar desconforto nos animais, mesmo em condições subagudas (Visek 1984; Detmann et al., 2009; Moraes et al., 2009).

Assim, a ausência de efeito dos diferentes níveis de inclusão de ureia sobre o consumo dos animais no experimento 1, indicam que os fatores relacionados ao pasto possam ter limitado a amplitude de resposta. Dessa forma, a hipótese testada não veio a se confirmar, uma vez que as maiores inclusões de ureia no suplemento ofertado aos animais não alteraram seu consumo.

Os animais possuem habilidade para minimizar adversidades quanto à estrutura do pasto através da regulação do comportamento ingestivo, uma vez que

menores massas de bocado são compensadas por elevação da taxa de bocado e prolongamento do tempo de pastejo (Carvalho, 2005). Essa habilidade é limitada, uma vez que bovinos dificilmente excederão o tempo de pastejo de 12 horas, pois também demandam tempo para ócio e ruminação (Carvalho, 2005). Dessa forma, a elevada proporção de colmo (60,2% de colmo verde + colmo morto) e a baixa densidade do pasto (1,3 kg de MS/m³), refletem uma estrutura prejudicial ao pastejo que, aparentemente, não pôde ser compensada pela alteração do comportamento ingestivo dos animais (ingestão de colmo e material de baixa digestibilidade), uma vez que os aspectos estruturais possuem grande influência sobre o consumo (Poppi et al., 1987), interferindo na resposta aos diferentes suplementos ofertados (Silva et al., 2009).

Em pastos de estrutura prejudicada, os animais são obrigados a ingerir, em maior proporção, componentes estruturais do pasto com valor nutritivo inferior, como o colmo morto (Santos et al., 2016). Isso justifica o baixo valor nutritivo das amostras de pastejo simulado dos animais, com baixo teor proteico e elevado teor de FDN, FDA e lignina. Destacando ainda, que uma hora após a suplementação os animais já haviam consumido todo o suplemento, com apenas uma visita ao cocho e sem que houvesse sobras de suplementos durante todo o experimento para todos os tratamentos ofertados.

Em animais consumindo pastos de baixo teor proteico e elevado teor de FDN, alterações na fonte proteica do suplemento, bem como a inclusão de aditivos, têm suas respectivas relevâncias reduzidas para com o desempenho animal, pois a deficiência de N no rúmen é elevada (Carvalho et al., 2017; Almeida et al., 2018). E, por isso, a elevação da inclusão de ureia (com aumento de dois pontos percentuais) e o uso do ET nos suplementos não influenciou o consumo dos animais.

A elevação da digestibilidade aparente da proteína bruta causada pela inclusão dos ET reflete uma possível elevação da proteína metabolizável da dieta, semelhante ao observado por Mezzomo et al. (2011). Ainda neste sentido, considerando os efeitos da complexação entre os extratos de taninos e as proteínas e as interações dos fatores avaliados com o tempo pós-suplementação, reveste-se de importância destacar a elevação do butirato e do isovalerato após o consumo do suplemento. Os extratos de taninos podem ser hidrolizados no rúmen a butirato

através de uma ação enzimática em série que utiliza a via 3-hidroxi-5-oxohexanoato (Krumholz and Bryant, 1986; Bhat et al., 1998).

A liberação da proteína verdadeira pelo rompimento das ligações entre os extratos de taninos e proteínas, disponibiliza aminoácidos para os microrganismos ruminais, como a leucina, que ao ser deaminada libera o isovalerato, o qual é um ácido graxo de cadeia ramificada. Em experimentos testando diferentes doses de inclusão de extratos de taninos, com a finalidade de reduzir perdas urinárias de nitrogênio em dietas com elevado teor proteico, há uma redução da concentração de isovalerato para doses elevadas de extratos de taninos (Aboagye et al., 2018). Contudo, as dietas possuíam elevadas taxa de passagem, assim o tempo disponível para hidrolização dos taninos é reduzida, diferentemente do que ocorre no presente estudo, com animais ingerindo um pasto de baixo valor nutritivo, prolongando o tempo de permanência no rúmen.

A redução da relação acetato:propionato com a inclusão de extratos de taninos apontam para uma maior eficiência no processo de fermentação, em concordância com estudos utilizando baixas dosagens de inclusão de metabólitos secundários, como taninos e saponinas, na dieta animal (Koenig e Beauchemin, 2018; Liu et al., 2019). O pH também se elevou nas primeiras horas após suplementação com a maior inclusão de ureia, uma vez que a hidrólise enzimática total de uma molécula de ureia libera duas moléculas de amônio e um dióxido de carbono, adsorvendo temporariamente ions H^+ do meio.

Para o NAR, os valores obtidos no presente estudo foram, em média, de apenas 4,71 mg/dL, podendo ser considerados baixos, onde para a exploração da máxima degradação da fibra em pastos com baixo valor nutritivo, Detmann et al. (2009), verificaram que a suplementação dos animais deveria elevar a concentração do NAR para os valores mínimos de 8,00 mg/dL. Justifica-se assim, a ausência de sobras durante o estudo pelos animais, inclusive para os que consumiram o suplemento com alta inclusão de ureia, pois segundo Detmann et al. (2009), restrições quanto ao consumo voluntário ocorreriam somente em concentrações acima de 15,17 mg/dL de NAR. A maior concentração de NAR às 6 horas após a suplementação para a alta ureia em relação à baixa ureia (8,98 vs. 5,40 mg/dL)

sugere que o pico de NAR pode ter ocorrido antes das 3 horas após a suplementação.

Adicionalmente, a elevação da ureia no soro para a alta inclusão de ureia no suplemento corrobora com a narrativa que ela favorece as perdas de N-NH_3 nas primeiras horas após a suplementação e, possivelmente aumentando a mobilização de N a partir de catabolismo tecidual (Li et al., 2019).

Por possuírem importante papel no metabolismo proteico, os protozoários são foco de alguns estudos relacionados à inclusão de extratos de taninos em dietas e sua interação com a proteína. No entanto, a literatura não se apresenta concisa em relação a influencia dos extratos de taninos sobre a população de protozoários, onde certos estudos mostraram uma inibição da população (Bhatta et al., 2009; Hariadi e Santoso, 2010) e outros mais recentes (Aboagye et al., 2018; Aboagye et al., 2019), assim como no presente estudo, não verificaram efeitos dos extratos de taninos sobre a população de protozoários.

A observação dos índices de riqueza Ace e Chao1, assim como o de diversidade Simpson, demonstra que os extratos de taninos foram capazes de aumentar a riqueza e reduzir a diversidade bacteriana no rúmen, porém com uma menor variedade de indivíduos no rumen, podendo estar relacionado a rumens mais efficientes em função de um menor número de vias metabólicas (Weiss et al., 2008; Zhu et al., 2018).

A elevada proporção de microrganismos desconhecidos é compatível com trabalhos que buscam caracterizar a população ruminal de hospedeiros que se encontram em condições adversas, alimentando-se de material de baixa qualidade (Hartinger et al. 2018). Isso demonstra que a população microbiana se altera nessas condições, onde maiores variações da microbiota se correlacionam negativamente com indivíduos mais produtivos, porém positivamente para com maiores eficiências de utilização do nitrogênio.

A análise de PCA mostrou que a principal variação dos dados relativos à abundância dos diferentes gêneros classificados é oriunda das diferentes inclusões de ureia nos suplementos. Dentre os microrganismos que tiveram aumento em sua abundância para a alta inclusão de ureia, se descam a *Mogibacterium*, que possui cepas relacionadas a inflamações dentarias em humanos, mas também foram

encontradas no rúmen de animais que receberam tratamentos com extratos de flavonóides de alfafa (Zhan et al., 2017). Acredita-se que no rumen a *Mogibacterium* atue junto ao epitélio ruminal contribuindo para a hidrólise da ureia em amônia (Liu et al., 2015), justificando sua maior abundância em suplementos com maior inclusão de ureia.

Além dessas, ainda para alta inclusão de ureia, foram observadas maiores abundâncias de gêneros como a *Butyrivibrio*, que possuem atividade sobre xilanas e proteínas no rúmen (Cotta e Hespell, 1986; Hespell et al., 1987). Assim como *Acidaminococcaceae_Other*, uma família ainda pouco explorada e que possuem uma dupla membrana de microrganismos Gram-negativos, porém seu esqueleto cromossomal é mais próximo de Gram-positivas do Filo Firmicutes (D'Auria et al., 2011). E por último, a *Anaeroplasma*, que detem espécies de Gram-negativas com habilidade de se desenvolverem em temperaturas por volta de 37°C (Vincent et al., 2017).

Para a baixa inclusão de ureia, foram observadas maiores abundâncias relativas de gêneros como *Prevotella*, com reconhecida ação proteolítica (Hartinger et al. 2018), uma vez que os tratamentos disponibilizavam maiores quantidades de proteína verdadeira. Outros como *Synergistes*, que possuem cepas como a *S. jonesii*, com habilidade em degradar compostos tóxicos, como 3-hidroxi-4(IH)-piridina (Allison et al., 1992). Assim como famílias pouco conhecidas de *Firmicutes_Other*, e outras reconhecidas por atuarem na degradação de fibras no rúmen, como o gênero *Ruminococcus*.

A sobreposição dos grupos no PCA (Figura 19) indicam que as variações na microbiota não foram intensas, uma vez que o pasto disponível para os animais constituíram, por si só, um grande desafio a microbiota ruminal.

Os dados sugerem que a ação dos extratos de taninos esteve relacionada de maneira mais próxima à blindagem da proteína, do que para a redução de microrganismos que degradam a proteína no rúmen. Considerando a manipulação da fermentação proteica no rúmen, sem grandes alterações relacionadas à microbiota, assim como o observado por Petri et al. (2019).

Adicionalmente, embora tenha havido mudanças pontuais na abundância dos microrganismos descritos, não foram observados efeitos contundentes em grupos

funcionais específicos, como o de microrganismos celulolíticos ou proteolíticos, por exemplo, corroborando para a ausência de variações na degradação de fibra e consumo. A avaliação de grupos funcionais específicos é interessante pelo fato de bactérias de diferentes linhagens compartilharem o mesmo nicho de atuação, assim a inibição de um determinado microrganismo talvez não afete seu nicho de atuação, pois outras linhagens desempenham a mesma função, explicado pelo conceito de redundância (Moraïs e Mizrahi, 2019).

Apesar da maior variação causada na microbiota, a ausência de efeito sobre o consumo fez com que não houvesse alteração no desempenho dos animais que receberam suplementos com concentrações mais elevadas de ureia. A manipulação dos parâmetros ruminais não foram suficientes para que o ET promovesse um melhor desempenho dos animais. Neste contexto, a maior inclusão de ureia (5%) poderá ser utilizada como uma estratégia para reduzir o custo dos suplementos no período da seca.

8. CONCLUSÃO

A elevação da inclusão de ureia não influenciou o desempenho, o consumo e a digestibilidade dos nutrientes e os extratos de taninos não foram capazes de aumentar o desempenho isoladamente.

Para melhor elucidar a capacidade dos extratos de taninos em flexibilizar a inclusão de ureia em suplementos para o período seco, novos estudos são necessários com suplementos de elevados teor proteico, onde os diferentes níveis de inclusão de ureia afetem o consumo de suplemento e também em pastos de elevada participação de folha.

9. REFERÊNCIAS

Aboagye IA, Oba M, Castillo AR, Koenig KM, Iwaasa AD, Beauchemin KA (2018). Effects of hydrolyzable tannin with or without condensed tannin on methane

emissions, nitrogen use, and performance of beef cattle fed a high-forage diet. **Journal of animal science**, 96(12), 5276-5286.

Aboagye IA, Oba M, Koenig KM, Zhao GY, Beauchemin KA (2019). Use of gallic acid and hydrolyzable tannins to reduce methane emission and nitrogen excretion in beef cattle fed a diet containing alfalfa silage. **Journal of Animal Science**.

Abou Akkada AR, Howard BH (1962). The biochemistry of rumen protozoa. 5. The nitrogen metabolism of Entodinium. **Biochemical Journal**, 82(2), 313.

Afonso LEF, Santos MER, Silva SP, Rêgo AC, Fonseca DM, Carvalho BHR (2018). O capim-marandu baixo no início do diferimento melhora a morfologia do pasto e aumenta o desempenho dos ovinos no inverno. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**. (Online), 70(4), 1249-1256.

Aganga AA, Monase KW (2001). Tannin content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capasa* *Zizyphus mucronata* *Sclerocarya birrea* *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.91, n.1, p.107-113.

Akiyama H (2001). Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.48, n.4, p.487-491.

Allison MJ, Mayberry WR, Mcsweeney CS, Stahl DA (1992). *Synergistes jonesii*, gen. nov., sp. nov.: a rumen bacterium that degrades toxic pyridinediols. **Systematic and Applied Microbiology**, 15(4), 522-529.

Almeida DM, Marcondes MI, Rennó LN, Martins LS, Villadiego FAC, Paulino MF (2018). Soybean grain is a suitable replacement with soybean meal in multiple supplements for Nellore heifers grazing tropical pastures. **Tropical animal health and production**, 50(8), 1843-1849.

Archana AB, Jadhav MV, Kadam VJ (2010). Potential of tannins: a review. **Asian Journal of Plant Sciences**. v.9, n.1, p.209–214.

Aschenbach JR, Bilk S, Tadesse G, Stumpff F, Gäbel G (2009). Bicarbonate-dependent and bicarbonate-independent mechanisms contribute to non-diffusive

uptake of acetate in the ruminal epithelium of sheep. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**. v. 296, n. 5, p. G1098-G1107.

Aschenbach JR, Penner GB, Stumpff F, Gäbel G (2011). Ruminant nutrition symposium: Role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH. **Journal of Animal Science**, 89(4), 1092-1107.

Attwood GT, Klieve AV, Ouwkerk D, Patel BKC (1998). Ammonia hyperproducing bacteria from New Zealand ruminants. **Applied and Environmental Microbiology**. 64:1796–804.

Attwood GT, Reilly K (1995). Identification of proteolytic rumen bacteria isolated from New Zealand cattle. **Journal of Applied Bacteriology**. 79:22–9

Attwood GT, Reilly K (1996). Characterization of proteolytic activities of rumen bacterial isolates from forage-fed cattle. **Journal of Applied Bacteriology**. 81:545–52.

Attwood GT, Reilly K, Patel BKC (1996). *Clostridium proteoclasticum* sp. nov., a novel proteolytic bacterium from the bovine rumen. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 46(3), 753-758.

Balsalobre MAA, Corsi M, Santos PM, Vieira I, Cárdenas RR (2003). Composição química e fracionamento do nitrogênio e dos carboidratos do capim-tanzânia irrigado sob três níveis de resíduo pós-pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 32(3), 519-528.

Barajas R, Cervantes B, Vázquez J, Camacho A, Romo A (2015). Influence Of Different Levels of Silvafeed□ ByPro on Feedlot Performance of Bullocks. **Proceedings...** ADSA ASAS Joint Annual Meeting Orlando, FL (USA).

Barbosa AM, Valadares RFD, Valadares Filho SC, Pina DS, Detmann E, Leão MI (2011). Endogenous fraction and urinary recovery of purine derivatives obtained by different methods in Nelore cattle. **Journal of Animal Sciency**., 89, 510–519.

Batista ED, Detmann E, Titgemeyer EC, Valadares Filho SC, Valadares RFD, Prates LL, Paulino MF (2016). Effects of varying ruminally undegradable protein supplementation on forage digestion, nitrogen metabolism, and urea kinetics in

Nellore cattle fed low-quality tropical forage. **Journal of animal science**, 94(1), 201-216.

Beauchemin KA, Kreuzer M, O'Mara F, McAllister TA (2008). Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**. v.48, n.1, p.21–27.

Beef Cattle Nutrient Requirements Model. Nutrient requirements of beef cattle (2016). 8th edition. Washington, DC: The National Academies Press, 475p.

Belanche A, De La Fuente G, Moorby JM, Newbold CJ (2012). Bacterial protein degradation by different rumen protozoal groups. **Journal of animal science**. 90:4495–504.

Bhatta R, Baruah L, Saravanan M, Suresh KP, Sampath KT (2013). Effect of medicinal and aromatic plants on rumen fermentation, protozoa population and methanogenesis *in vitro*. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. (Berl). 97:446–456.

Bhatta R, Uyeno Y, Tajima K, Takenaka A, Yabumoto Y, Nonaka I, Enishi O, Kurihara M (2009). Difference in the nature of tannins on *in vitro* ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. **Journal Dairy Sciency**. 92, 5512–5522.

Bhat TK, Singh B, Sharma OP (1998). Microbial degradation of tannins—a current perspective. **Biodegradation** 9:343–357.

Boin C, Alleoni GF, Beisman DA (1983). Comparação entre silagem de milho e cana-de-açúcar na alimentação de ruminantes 1. Digestibilidade de rações balanceadas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 20, 1983, Pelotas. **Anais...** Viçosa: SBZ, p.83.

Canesin RC, Berchielli TT, Andrade PD, Reis RA (2007). Desempenho de bovinos de corte mantidos em pastagem de capim-marandu submetidos a diferentes estratégias de suplementação no período das águas e da seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 411-420.

Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD (2010) QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nature Methods**, New York, v.7, p.335-336.

Carnevali RA (2003). **Dinâmica da rebrotação de pastos de capim-Mombaça submetidos a regimes de desfolhação intermitente**. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

Carvalho PCF (2005). O manejo da pastagem como gerador de ambientes pastoris adequados a produção animal. Em: Teoria e pratica da produção animal em pastagens. Eds. Silveira P., CG, 7-33.

Carvalho VV, Paulino MF, Detmann E, Chizzotti ML, Martins LS, Silva AG, Moura, FH (2017). Effects of supplements containing different additives on nutritional and productive performance of beef cattle grazing tropical grass. **Tropical animal health and production**, 49(5), 983-988.

Casali AO, Detmann E, Valadares Filho SDC, Pereira JC, Henriques LT, Freitas SGD, Paulino MF (2008). Influence of incubation time and particles size on indigestible compounds contents in cattle feeds and feces obtained by in situ procedures. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 335-342.

Chen G, Russell JB. More monensin-sensitive, ammonia-producing bacteria from the rumen (1989). **Applied and Environmental Microbiology**. 55:1052–7.

Chen XB, Gomes MJ (1992). Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - an overview of technical details. International Feed Research Unit. Aberdeen: Rowett Research Institute, p.21.

Chizzotti ML, Valadares Filho SC, Valadares RFD, Chizzotti FHM, Tedeschi LO (2008). Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, 113, 218-225.

Cole NA, Todd RW (2008). Opportunities to enhance performance and efficiency through nutrient synchrony in concentrate-fed ruminants. **Journal of animal science**, 86(suppl_14), E318-E333.

Costa e Silva LF (2011). **Exigências nutricionais, validação de equações para a estimação da composição do corpo vazio e uso da creatinina para estimar a proporção de tecido muscular em bovinos Nelore**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 126p.

Costa VAC, Detmann E, Paulino MF, Valadares Filho SC, Henriques LT, Carvalho IPC (2011). Total and partial digestibility and nitrogen balance in grazing cattle supplemented with non-protein and, or true protein nitrogen during the rainy season. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 40:2815–2826.

Cotta MA, Hespell RB (1986). Proteolytic activity of the ruminal bacterium *Butyrivibrio fibrisolvens*. **Applied and Environmental Microbiology**. 52:51–8.

D'Agosto M, Carneiro ME (1999). Evaluation of lugol solution used for counting rumen ciliates. **Revista Brasileira de Zoologia**. 16: 725-729.

D'Auria G, Galán JC, Rodríguez-Alcayna M, Moya A, Baquero F, Latorre A (2011). Complete genome sequence of *Acidaminococcus intestini* RYC-MR95, a Gram-negative bacterium from the phylum Firmicutes. **Journal of Bacteriology**. 193 (24) 7008-7009.

Dehority BA (1984). Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. **Applied and Environmental Microbiology**, 48: 182-185.

Deshpande SS, Cheryan M, Salunkhe DK (1986). Tannin analysis of foodextent and rate of in vitro gas and CH₄ production using an automated pressure evaluation system (APES). **Animal Feed Science Technology**. v.166, p.377–390.

Detmann E, Paulino MF, Valadares Filho SC, Batista ED, Rufino LMA (2014). Aspectos nutricionais aplicados a bovinos em pastejo nos trópicos. **Anais...IX Simpósio de Produção de Gado de Corte e V Simpósio Internacional de Produção de Gado de Corte**.(Eds SC Valadares Filho, MF Paulino, ML Chizzotti) pp, 239-267.

Detmann E, Paulino MF, Valadares Filho SC, Huhtanen P (2014). Aspectos nutricionais aplicados a bovinos em pastejo nos trópicos: uma revisão baseada em resultados obtidos no Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, 35(4Supl), 2829-2854.

Detmann E, Paulino MF, Mantovani HC, Valadares Filho SDC, Sampaio CB, Souza MA, Lazzarini I, Detmann KS (2009). Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using Michaelis–Menten kinetics. **Livestock Science**, 126(1-3), 136-146.

Detmann E, Paulino MF, Valadares Filho SC (2010). Otimização do uso de recursos forrageiros basais. In: Anais do 7º Simpósio de Produção de Gado de Corte, **Anais...Viçosa**. pp.191-240.

Detmann E, Paulino MF, Valadares Filho SC, Lana RP (2007). Fatores controladores de consumo em suplementos múltiplos fornecidos ad libitum para bovinos manejados a pasto. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, 55, 73-93.

Detmann E, Paulino MF, Valadares Filho SDC (2008). Avaliação nutricional de alimentos ou de dietas? Uma abordagem conceitual. **Simpósio de Produção de Gado de Corte**, 6, 21-52.

Detmann E, Queiroz AC, Zorzi K, Mantovani HC, Bayão GFV, Gomes MPC (2011). Degradação in vitro da fibra em detergente neutro de forragem tropical de baixa qualidade em função da suplementação com proteína verdadeira e/ou nitrogênio não-protéico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 40(6), 1272-1279.

Detmann E, Valente EE, Batista ED, Huhtanen P (2014). An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livestock Science**, 162, 141-153.

Devillard EC, Bera-Maillet HJ, Flint KP, Scott CJ, Newbold RJ, Wallace JP, Jouany E (2003). Characterization of XYN10B, a modular xylanase from the ruminal protozoan *Polyplastron multivesiculatum*, with a family 22 carbohydrate-binding module that binds to cellulose. **Biochemical Journal**. 373:495–503.

De Vries MFW (1995). Estimating forage intake and quality in grazing cattle: a reconsideration of the hand-plucking method. **Journal of Range Management** 48, 370-375.

Díaz Carrasco JM, Cabral C, Redondo LM, Pin Viso ND, Colombatto D, Farber MD, Fernández Miyakawa ME (2017). Impact of chestnut and quebracho tannins on rumen microbiota of bovines. **BioMed research international**, 2017.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Sistema brasileiro de classificação dos solos. Brasília, 412p. 1999.

Eschenlauer SCP, McKain N, Walker ND, McEwan NR, Newbold CJ, Wallace RJ (2002). Ammonia production by ruminal microorganisms and enumeration, isolation, and characterization of bacteria capable of growth on peptides and amino acids from the sheep rumen. **Applied and Environmental Microbiology**. 68: 4925–31.

Euclides V, Macedo M, Oliveira M (1992). Avaliação de diferentes métodos de amostragem sob pastejo. **Sociedade Brasileira de Zootecnia**, 21, 691-703.

Euclides VPB, Zimmer AH, Oliveira MPD (1993). Evaluation of *Brachiaria decumbens* and *Brachiaria brizantha* under grazing. In: *17 INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS* (Vol. 3). **Proceedings...** Palmerston North: New Zealand Grassland Association.

Fernandes RM, Almeida CM, Carvalho BC, Neto JAA, Mota VAC, Resende FD, Siqueira GR (2016). Effect of supplementation of beef cattle with different protein levels and degradation rates during transition from the dry to rainy season. **Tropical animal health and production**, 48(1), 95-101.

Fernandes RM, Mota VAC, Silva NC. As 7@ da recria começam na estação seca. In: Resende DF, Siqueira RG, Oliveira MI. Entendendo o Conceito BOI 777. 1º. Ed. Jaboticabal-SP, 2018. p. 123-132; 2018.

Ferreira EC, Nogueira AR (2000). Vanillin-condensed tannin study using flow injection spectrophotometry. **Talanta**. v.51, p.1-6.

Firkins JL, Yu Z, Morrison M (2007). Ruminal nitrogen metabolism: perspectives for integration of microbiology and nutrition for dairy. *Journal Dairy Science*. 90(E. Suppl):E1–E16.

Frutos P, Hervás G, Ramos G, Giráldez FJ, Mantecón AR (2002). Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. **Animal Feed Science and Technology**, v.92, p.215-226.

Fujihara T, Orskov ER, Reeds PJ, Kyle DJ (1987). The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. **Journal of Agricultural Science**, v. 109, p.7-12.

Gagen EJ, Padmanabha J, Denman SE, McSweeney CS (2015). Hydrogenotrophic culture enrichment reveals rumen *Lachnospiraceae* and *Ruminococcaceae* acetogens and hydrogen-responsive Bacteroidetes from pasture-fed cattle. **FEMS microbiology letters**, 362(14), fnv104.

Gordon GLR, Phillips MW (1998). The role of anaerobic gut fungi in ruminants. **Nutrition Research Reviews**, 11(1), 133-168.

Granja-Salcedo YT, Ribeiro CS, De Jesus RB, Gomez IAS, Rivera AR, Messana JD, Canesin RC, Berchielli TT (2016) Effect of different levels of concentrate on ruminal microorganisms and rumen fermentation in Nellore steers. **Archives of animal nutrition**, Abingdon v.70, n.1, p.17-32.

Grilli DJ, Cerón ME, Paez S, Egea V, Schnittger L, Cravero S, Arenas GN (2013). Isolation of *Pseudobutyrvibrio ruminis* and *Pseudobutyrvibrio xylanivorans* from rumen of Creole goats fed native forage diet. **Folia microbiologica**, 58(5), 367-373.

Grilli DJ, Mansilla ME, Giménez MC, Schaefer N, Ruiz, MS, Terebiznik MR, Arenas GN (2019). *Pseudobutyrvibrio xylanivorans* adhesion to epithelial cells. **Anaerobe**, 56, 1-7.

Griswold KE, White BA, Mackie RI (1999). Proteolytic activities of the starchfermenting ruminal bacterium, *Streptococcus bovis*. **Current microbiology**. 39: 180–6.

Goering HK, Van Soest PJ (1970). Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications). Washington, DC: USDA.

Haitjema CH, Solomon KV, Henske JK, Theodorou MK, O'Malley MA (2014). Anaerobic gut fungi: advances in isolation, culture, and cellulolytic enzyme discovery for biofuel production. **Biotechnology and bioengineering**. 111:1471–82.

Hall MB, Huntington GB (2008). Nutrient synchrony: Sound in theory, elusive in practice. **Journal of Animal Science**, 86(suppl_14), E287-E292.

Hariadi BT, Santoso B (2010). Evaluation of tropical plants containing tannin on *in vitro* methanogenesis and fermentation parameters using rumen fluid. **Journal Sciency Food Agriculture**. 90, 456–461.

Hartinger T, Gresner N, Sudekum KH (2018) Does intra-ruminal nitrogen recycling waste valuable resources? A review of major players and their manipulation. **Journal of Animal Science and Biotechnonology**, v.9, p 1-21.

Henderson G, Cox F, Ganesh S, Jonker A, Young W, Janssen PH (2015). Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. **Scientific reports**. 5: 1456.

Henderson G, COX F, Kittelmann S, Heidarian MV, Zethof M, Noel SJ, Waghorn GC, Janssen PH (2013) Effect of DNA Extraction Methods and Sampling Techniques on the Apparent Structure of Cow and Sheep Rumen Microbial Communities. *PLoS ONE*, San Francisco, v. 8, n.9. p. e74787.

Hespell RB, Wolf R, Bothast RJ (1987). Fermentation of xylans by *Butyrivibrio fibrisolvens* and other ruminal bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, 53(12), 2849-2853.

Hoover W. H. (1986). Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal of Dairy Science**, 69(10), 2755-2766.

Huber JT, Cook RM (1972). Influence of site of administration of urea on voluntary intake of concentrate by lactating cows. **Journal of dairy science**, 55(10), 1470-1473.

Hugon P, Ramasamy D, Robert C, Couderc C, Raoult D, Fournier PE (2013). Non-contiguous finished genome sequence and description of *Kallipyga massiliensis* gen. nov., sp. nov., a new member of the family Clostridiales Incertae Sedis XI. **Standards in genomic sciences**, 8(3), 500.

Ivan M, Neill L, Entz T (2000). Ruminal fermentation and duodenal flow following progressive inoculations of fauna-free wethers with major individual species of ciliate protozoa or total fauna. **Journal of Animal Sciency**. 78:750–9.

Jami E, Mizrahi I (2012). Similarity of the ruminal bacteria across individual lactating cows. **Anaerobe**. 18:338–43.

Jayanegara A, Leiber F, Kreuzer M (2012). Meta-Analysis of the Relationship Between Dietary Tannin Level and Methane Formation in Ruminants from in Vivo and in Vitro Experiments. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v.96, n.3, p.365-375.

Jones G. A., McAllister T. A., Muir A. D., Chen G. K. J (1994). Effects of Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) Condensed Tannins on Growth and Proteolysis by Four Strains of Ruminal Bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**. v.60, n.4, p.1374-1378.

Jones WT, Mangan JL (1977). Complexes of the Condensed Tannins of Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) with Fraction 1 Leaf Protein and with Submaxillary Mucoprotein, and their Reversal by Polyethylene Glycol and pH. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.28, n.2, p.126-136.

Júnior JS, Rennó LN, Valadares Filho SC, Paulino MF, Detmann E, Menezes GCC, Marcondes MI (2018). Evaluation of collection days and times to estimate urinary excretion of purine derivatives and nitrogen compounds in grazing Nelore cattle. **Livestock Science**, 217, 85-91.

Kertz AF, Koepke MK, Davidson LE, Betz NL, Norris JR, Skoch LV, Hopkins DT (1982). Factors influencing intake of high urea-containing rations by lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, 65(4), 587-604.

Koenig KM, Beauchemin KA (2018). Effect of feeding condensed tannins in high protein finishing diets containing corn distillers grains on ruminal fermentation, nutrient digestibility, and route of nitrogen excretion in beef cattle. **Journal of animal science**, 96(10), 4398-4413.

Koenig KM, Beauchemin KA, McGinn SM (2018). Feeding condensed tannins to mitigate ammonia emissions from beef feedlot cattle fed high-protein finishing diets containing distillers grains. **Journal of animal science**, 96(10), 4414-4430.

Kramer T, Michelberger T, Gürtler H, Gäbel G (1996). Absorption of short-chain fatty acids across ruminal epithelium of sheep. **Journal of Comparative Physiology B**, 166(4), 262-269.

Krause DO, Denman SE, Mackie RI, Morrison M, Rae AL, Attwood GT, McSweeney CS (2003). Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics. **FEMS microbiology reviews**, 27(5), 663-693.

Krumholz LR, Bryant MP (1986). *Eubacterium oxidoreducens* sp. nov. requiring H₂ or formate to degrade gallate, pyrogallol, phloroglucinol and quercetin. **Archieve Microbiology**. 144:8–14.

Laca EA, Lemaire G (2000). Measuring sward structure. **Field and laboratory methods for grassland and animal production research**, 103-121.

Lapierre H, Lobley GE (2001). Nitrogen recycling in the ruminant: A review. **Journal of Dairy Science**, 84, E223-E236.

Lascano CE, Schmidt A, Barahona R (2001). Forage quality and the environment. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 2001, São Pedro. **Proceedings...** São Pedro: FEALQ. p.351-356.

Lazzarini I, Detmann E, Sampaio CB, Paulino MF, Valadares Filho SC, Souza, MA, Oliveira FA (2009). Intake and digestibility in cattle fed lowquality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38, 2021-2030.

Leng RA. (1990). Factors affecting the utilization of 'poor-quality'forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition research reviews**, 3(1), 277-303.

Li MM, Titgemeyer EC, Hanigan MD (2019). A revised representation of urea and ammonia nitrogen recycling and use in the Molly cow model. **Journal of Dairy Science**.

Liu Y, Ma T, Chen D, Zhang N, Si B, Deng K, Diao Q (2019). Effects of Tea Saponin Supplementation on Nutrient Digestibility, Methanogenesis, and Ruminal Microbial Flora in Dorper Crossbred Ewe. **Animals**, 9(1), 29.

Lockwood BC, Coombs GH, Williams AG (1988). Proteinase activity in rumen ciliate protozoa. **Microbiology**. 134:2605–14.

Maass BL, Lascano CE, Cárdenas EA (1996). La leguminosa arbustiva *Codariocalyx gyroides*. Valor nutritivo y aceptabilidad en el piedemonte amazónico, Cquetá, Colombia. **Pasturas Tropicale**. v.18, p.10-16.

Makkar HPS (2003). Effect and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin rich feeds. *Small Ruminant Research*, v.49, p.241-256.

Manella M, Cidrini I (2018). Uso de taninos para melhorar a eficiência de uso da energia e reduzir emissão de CH₄. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PRODUÇÃO DE RUMINANTES NO CERRADO, 4., Uberlândia, MG. **Anais...** Uberlândia, MG: FAMEV UFU. Pg 97 – 115.

Maynard LA, Loosli JK, Hintz HF, Warner, R.G. *Animal Nutrition*. Trad. FIGUEIREDO F.º. A.B.N. 3º ed. Rio de Janeiro. Freitas Bastos, 1984. p. 736.

McAllan AB, Smith RH (1983). Factors influencing the digestion of dietary carbohydrates between the mouth and abomasum of steers. **British Journal of Nutrition**, 50(2), 445-454.

MCCann JC, Wiley LM, Forbes TD, Rouquette FMJR, Tedeschi LO (2014). Relationship between the rumen microbiome and residual feed intake-efficiency of Brahman bulls stocked on bermudagrass pastures. **PLoS One**. v.9, n.3p.918-64.

Merchant SS, Helmann JD (2012). Elemental economy: microbial strategies for optimizing growth in the face of nutrient limitation. In *Advances in microbial physiology* (Vol. 60, pp. 91-210). Academic Press.

Mertens DR (1994). Regulation of forage intake. Forage quality, evaluation, and utilization, (*foragequalityev*), 450-493.

Mezzomo R, Paulino PVR, Detmann E, Valadares Filho SC, Paulino MF, Monnerat JPIS (2011). Influence of condensed tannin on intake, digestibility and efficiency of protein utilization in beef steers fed high concentrate diet. **Livestock Science**. v.141, p.1–11.

Moore JE, Brant MH, Kunkle WE, Hopkins DI (1999). Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility, and animal performance. **Journal of Animal Science**, 77(suppl_2), 122-135.

Moore JE. Forage crops (1980). In: HOVELAND, C.S. (Ed.). Crop quality, storage, and utilization. Madison, Wisconsin: Crop Science Society of America. p.61-91.

Moraes EHBKDU, Paulino MFU, Moraes KAKDU, Valadares Filho SDCU, Zervoudakis JTU, Detmann EU (2009). Uréia em suplementos protéico-energéticos para bovinos de corte durante o período da seca: características nutricionais e ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38(4), 770-777.

Moraís S, Mizrahi I. The Road Not Taken: The Rumen Microbiome, Functional Groups, and Community States. **Trends in microbiology**, 2019.

Morgavi DP, Kelly WJ, Janssen PH, Attwood GT (2013). Rumen microbial (meta) genomics and its application to ruminant production. **Animal**, 7(s1), 184-201.

Moriel P, Vendramini JM, Carnelos C, Piccolo MB, Silva HM (2018). Effects of monensin on growth performance of beef heifers consuming warm-season perennial grass and supplemented with sugarcane molasses. **Tropical animal health and production**, 1-6.

Mott GO, Lucas HL (1952). The designs conduct, and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, Pennsylvania. **Proceedings...** Pennsylvania: State College Press, p.1380-1385.

Mueller-Harvey, I (2006). Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.86, p.2010–2037.

National Academies of Sciences E, Medicine. Nutrient requirements of beef cattle (NRBC): eighth revised edition. Washington, DC: The National Academies Press; 2016. 494 p.

National Research Council. (2001). Nutrient requirements of dairy cattle: 2001. National Academies Press.

Naumann HD, Tedeschi LO, Zeller WE, Huntley NF (2017). The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 46(12), 929-949.

Nogueira MP 2018. Por que preciso produzir 21@ em até 24 meses?. In F. D. Resende GR. Gustavo & I. M. Oliveira (Eds), Entendendo o conceito do Boi 777 (pp. 03-21). Jaboticabal: Gráfica Multipress LTDA.

Nolan JV (1993). Nitrogen kinetics. In: FORBES, J.M., FRANCE, J. (Eds.) Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. Wallingford: C.A.B. International. p.123-143.

NRC. 1996. Nutrient requirements of beef cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

NRC. 2000. Nutrient requirements of beef cattle. Update. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

Oliveira MN, Jewell KA, Freitas FS, Benjamin LA, Tótola MR, Borges AC (2013). Characterizing the microbiota across the gastrointestinal tract of a Brazilian Nelore steer. **Veterinary Microbiology**. v.28, n.1, p.307-314.

Oliveira SG, Berchielli TT, Natarelli B, Malheiros EB (2015). Valor alimentício e aspectos econômicos de dietas com variação no teor de tanino e nível protéico em bovinos de corte. **Ceres**, 55(5).

Ozdayram E, Ince O, Ince B, Harms H, Kleinstaub S (2018). Comparison of rumen and manure microbiomes and implications for the inoculation of anaerobic digesters. **Microorganisms**, 6(1), 15.

Palmquist DL, Conrad HR (1971). Origin of plasma fatty acids in lactating cows fed high grain or high fat diets. **Journal Dairy Sci.** 54:1025–1033.

Parsons AJ, Penning PD (1988). The effect of the duration of regrowth on photosynthesis, leaf death and the average rate of growth in a rotationally grazed sward. **Grass and forage science**, 43(1), 15-27.

Paster BJ, Russell JB, Yang CMJ, Chow JM, Woese CR, Tanner R (1993). Phylogeny of the ammonia-producing ruminal bacteria *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium sticklandii*, and *Clostridium aminophilum* sp. nov. **International journal of systematic bacteriology**. 43:107–10.

Patra AK, Saxena J (2010). A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. **Phytochemistry**. v.71, p.1-10.

Patra AK, Saxena J (2011). Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 91(1), 24-37.

Paulino MF (1982). **Efeitos de diferentes níveis de uréia sobre o desenvolvimento de novilhas zebus**. Escola de Veterinária da UFMG.

Paulino MF, Detmann E, Valadares Filho SC (2006). Suplementação animal em pasto: energética ou protéica. Simpósio sobre manejo estratégico da pastagem, 3 **Anais...**, 359-392.

Petri RM, Mickdam E, Klevenhusen F, Beyer B, Zebeli Q (2019). Effects of the supplementation of plant-based formulations on microbial fermentation and predicted metabolic function *in vitro*. **Anaerobe**.

Poppi DP, Hughes TP, L'huillier PJ (1987). Intake of pasture by grazing ruminants. Livestock feeding on pasture. Hamilton: **New Zealand Society of Animal Production**, 7, 55-64.

Poppi DP, McLennan SR (1995). Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **Journal of Animal science**, 73(1), 278-290.

Reis RA, Melo GMP, Bertipaglia LMA. et al. Otimização da utilização da forragem disponível através da suplementação estratégica. In: **VOLUMOSOS NA PRODUÇÃO DE RUMINANTES**, 2., 2005, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 2005. p.25-60.

Ribeiro GO, Gruninger RJ, Badhan A, McAllister TA (2016). Mining the rumen for fibrolytic feed enzymes. **Animal Frontiers**, 6(2), 20-26.

Rivera-Méndez C, Plascencia A, Torrentera N, Zinn RA (2017). Effect of level and source of supplemental tannin on growth performance of steers during the late finishing phase. **Journal of Applied Animal Research**, 45(1), 199-203.

Robertson JB, Van Soest PJ (1981). The detergent system of analysis and its application to human foods. In: JAMES, W.P. T.; THEANDER, O. (Eds.) The analysis of dietary fiber in food. New York: Marcel Dekker, p.123-158.

Russell JB (2002). Rumen Microbiology and its Role in Ruminant Nutrition, Ithaca, NY.

Russell JB, O'connor JD, Fox DG, Van Soest PJ, Sniffen CJ (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. **Journal of animal science**, 70(11), 3551-3561.

Rychlik JL, Russell JB (2000). Mathematical estimations of hyper-ammonia producing ruminal bacteria and evidence for bacterial antagonism that decreases ruminal ammonia production(1). **FEMS Microbiol Ecol**. 32: 121–8.

Sampaio CB, Detmann E, Paulino MF, Valadares Filho SC, Souza MA, Lazzarini I, Paulino PVR, Queiroz AC (2010). Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Tropical Animal Health and Production**, 42, 1471-1479.

Santos FAP (2006). Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T.T; PIRES, A.V; OLIVEIRA, S.G. Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal: FUNEP, cap. 9, p.259-261.

Santos ME, Fonseca DM, Sousa DO (2016). Seletividade aparente de bovinos em pastos de capim-braquiária sob períodos de diferimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 68(6), 1655-1663.

Santos MER, Fonseca DD, Balbino EM, Monnerat JPIS, Silva SD (2009c). Capim-braquiária diferido e adubado com nitrogênio: produção e características da forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38(4), 650-656.

Santos MER, Fonseca DD, Euclides VPB, Ribeiro Júnior JI, Nascimento Júnior D D, Moreira LDM (2009b). Produção de bovinos em pastagens de capim-braquiária diferidas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38(4), 635-642.

Santos MER, Fonseca DM, Balbino EM, Silva SP, Monerat JPIS (2010). Valor nutritivo de perfilhos e componentes morfológicos em pastos de capim-braquiária diferidos e adubados com nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 39(9), 1919-1927.

Santos MER, Fonseca DM, Euclides VPB, Nascimento Júnior D, Queiróz AC, Ribeiro Júnior JI (2009a). Características estruturais e índice de tombamento de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk em pastagens diferidas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38(4), 626-634.

Santos MER, Fonseca DM, Souza BML, Rocha GO, Carvalho NA, Carvalho RM, Carvalho BHR (2018). Todo ano tem seca. Está preparado? In F. D. Resende, G. R. Gustavo & I. M. Oliveira (Eds), Entendendo o conceito do boi777 (pp. 107-121). Jaboticabal: Gráfica Multipress LTDA.

Santos MER, Silveira MCT, Gomes VM, Fonseca DMD, Sousa BMDL, Santos ADD (2013). Pasture height at the beginning of deferment as a determinant of signal grass structure and potential selectivity by cattle. *Acta Scientiarum*. **Animal Sciences**, 35(4), 379-385.

Satter LD, Slyter LL (1974). Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. **British journal of nutrition**, 32(2), 199-208.

Sbrissia AF (2004). **Morfogênese, dinâmica do perfilhamento e do acúmulo de forragem em pastos de capim-Marandu sob lotação contínua**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.

Sbrissia AF, Silva SC (2008). Compensação tamanho/densidade populacional de perfilhos em pastos de capim-marandu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 37(1), 35-47.

Scheifinger C, Russell N, Chalupa W (1976). Degradation of amino acids by pure cultures of rumen bacteria. **Journal of Animal Science**. 43:821-7.

SCOT CONSULTORIA. Pecuária de Corte (2019). Disponível em: <www.scotconsultoria.com.br/cotacoes/boi-gordo>. Acesso em: 08 de março, 2019.

Selinger LB, Fosberg CW, Cheng KJ (1996). The rumen: A unique source of enzymes for enhancing livestock production. **Anaerobe** 2:263–284.

Siebert BD, Hunter RA (1982). Supplementary feeding of grazing animals. In: HACKER, J.B. (Ed.). Nutritional limits to animal production from pasture. Farnham Royal: Commonwealth Agricultural Bureau p.409-425.

Silva FFD, Sá JFD, Schio AR, Ítavo LCV, Silva RR, Mateus RG (2009). Grazing supplementation: availability and quality x supplementation levels x performance. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38(SPE), 371-389.

Simioni FL, Andrade IF, Ladeira MM, Gonçalves TM, Mata Júnior JI, Campos F (2009). Níveis e frequência de suplementação de novilhos de corte a pasto na estação seca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38(10), 2045-2052.

Smith AM, Reid JT (1955). Use of chromic oxide as an indicator of fecal output for the purpose of determining the intake of a pasture herbage by grazing cows. **Journal of Dairy Science**, v.38, n.5, p.515-524.

Sniffen CJ, O'connor JD, Van Soest PJ, Fox DG, Russell JB (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of animal science**, 70(11), 3562-3577.

Sollenberger LE, Cherney DJR (1995). Evaluating forage production and quality. In: BARNES, R.F.; MILLER, D.A.; NELSON, C.J. (Eds.) Forages: the science of grassland agriculture. Ames: University Press, v.2, p.97-110.

Souza MA, Detmann E, Paulino MF, Sampaio CB, Lazzarini I, Valadares Filho SC (2010). Intake, digestibility, and rumen dynamics of neutral detergent fibre in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogen and/or starch. **Tropical Animal Health and Production**, Amsterdam, v. 42, n. 6, p. 1299-1310.

Tamminga S (1989). Protein degradation in the forestomachs of ruminants. **Journal of Animal Science**. 49:1615–30.

Tavendale MH, Meagher LP, Pacheco D, Walker N, Attwood GT, Sivakumaran S (2005). Methane production from in vitro rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. **Animal Feed Science and Technology** 123–124, 403–419.

Ushida K, Jouany JP (1985). Effect of protozoa on rumen protein degradation in sheep. **Reproduction Nutrition Development**. 25:1075–81.

Valadares Filho SDC, Chizzotti ML, Rotta PP, Prados LF, Valadares RFD, Zanetti D, Braga JMDS (2012). Creatinine excretion and relationship with body weight of Nellore cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 41(3), 807-810.

Valadares Filho SC, Costa e Silva LF, Lopes SA, Prados LF, Chizzotti ML, Machado PAS, Furtado T (2016). Br-Corte 3.0. Cálculo de exigências nutricionais, formulação de dietas e predição de desempenho de zebuínos puros e cruzados, Disponível em: <www.brcorte.com.br> Acesso em 5 março, 2019.

Valente TNP, Lima EDS, Henriques LTD, Machado Neto OR, Gomes DÍ, Sampaio CB, Costa VAC (2011). Anatomia de plantas forrageiras e a disponibilidade de nutrientes para ruminantes: revisão. **Veterinária e Zootecnia**, 347-358.

Van Soest, P. J. Nutritional ecology of the ruminants. 2 ed. Ithaca: Cornell University Press, 1994. 476p.

Van Soest PJ, Robertson JB (1985). Analysis of forages and fibrous foods. Ithaca: Cornell University Press,. 202p.

Velásquez PAT, Berchielli TT, Reis RA, Rivera AR, Dian PHM, Teixeira IAMDA (2010). Composição química, fracionamento de carboidratos e proteínas e digestibilidade in vitro de forrageiras tropicais em diferentes idades de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 1206-1213.

Vieira RAM, Pereira JC, Malafaia PAM, Queiroz AD, Gonçalves AL (2000). Fracionamento e cinética de degradação in vitro dos compostos nitrogenados da extrusa de bovinos a pasto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 29(3), 880-888.

Vincent AT, Rouleau FD, Moineau S, Charette S J (2017). Study of mesophilic *Aeromonas salmonicida* A527 strain sheds light on the species' lifestyles and taxonomic dilemma. **FEMS microbiology letters**, 364(23), fnx239.

Visek WJ (1984). Ammonia: its effects on biological systems, metabolic hormones, and reproduction. **Journal of Dairy Science**, 67(3), 481-498.

Vogels GD, Hoppe WF, Stumm CK (1980). Association of methanogenic bacteria with rumen ciliates. **Applied and Environmental Microbiology**. v.40, p.608–612.

Wallace RJ (1985). Synergism between different species of proteolytic rumen bacteria. **Current Microbiology**. 12:59–63.

Wallace RJ, Brammall ML (1985). The role of different species of bacteria in the hydrolysis of protein in the rumen. **Microbiology**. 131:821–32.

Wallace RJ, McKain N (1991). A survey of peptidase activity in rumen bacteria. **Journal of general microbiology**. 137:2259–64.

Wallace RJ, McKain N, Broderick GA, Rode LM, Walker ND, Newbold CJ, et al. (1997) Peptidases of the rumen bacterium, *Prevotella ruminicola*. **Anaerobe**. 3: 35–42.

Wassie SE, Ali AIM, Korir D, Butterbach-Bahl K, Goopy J, Merbold L, Dickhoefer U (2019). Effects of feed intake level on efficiency of microbial protein synthesis and nitrogen balance in Boran steers consuming tropical poor-quality forage. **Archives of animal nutrition**, 1-18.

Weatherburn NW (1967). Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. **Analytical Chemistry**, v.39, p. 971-974.

Weiss A, Jérôme V, Freitag R, Mayer HK (2008). **Appl Microbiol Biotechnol**. 81: 163.

Williams AG, Coleman GS. The rumen protozoa. New York: Springer; 1992.

Williams CH, Davida DJ, Iismaa O (1962). Determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. **Journal of Agricultural Science**, v.59, p.381-385.

Wilson G, Martz FA, Campbell JR, Becker BA (1975). Evaluation of factors responsible for reduced voluntary intake of urea diets for ruminants. **Journal of Animal Science**, 41(5), 1431-1437.

Wilson JR (1997). Structural and anatomical traits of forage influencing their nutritive value for ruminants. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO, 1997, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa. p.173-208.

Wilson JW (1960). Influence of spatial arrangement of foliage area on light interception and pasture growth. **Proceedings...8th int. Grassld Congr.**

Xia Y, Kong Y, Huang H, Yang HE, Forster R, McAllister TA. In situ identification and quantification of protein-hydrolyzing ruminal bacteria associated with the digestion of barley and corn grain. **Canadian journal of microbiology**. v.62, n.12, p.1063-1067, 2016.

Zelter SZ, Leroy F, Tissie J, Naville M (1970). Protection of Proteins in the Feed against Deamination by Bacteria in the Rumen. **Annales de Biologie Animale, Biochimie et Biophysique**. v.10, p.111-122.

Zervoudakis JT, Silva LCR, Silva RP, José Neto A, Werner JF, Silva RGF (2011). Otimização do desempenho de bovinos por meio da suplementação á pasto. In: ANAIS DO I SIMBOV MT - SIMPÓSIO MATOGROSSENSE DE BOVINOCULTURA DE CORTE, 2011, Cuiabá-MT, **Anais...** Cuiabá:Juscemil Serafim, p.151-194.

Zhan J, Liu M, Wu C, Su X, Zhan K, Qi Zhao G (2017). Effects of alfalfa flavonoids extract on the microbial flora of dairy cow rumen. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, 30(9), 1261.

Zhu Z, Kristensen L, Difford GF, Poulsen M, Noel SJ, Al-Soud WA, Højberg O (2018). Changes in rumen bacterial and archaeal communities over the transition period in primiparous Holstein dairy cows. **Journal of dairy science**, 101(11), 9847-9862.

Tabela suplementar 1 - Mediana e rango interquartil dos índices de riqueza (Chao1 e ACE) e dos estimadores de diversidade (Shannon Wiener e Simpson) do líquido ruminal de novilhos Nelore recebendo suplementos com oferta de 3 g/kg do PC com diferentes níveis de inclusão de ureia com ou sem extratos de taninos (ET) em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu no período da seca.

Item	Baixa Ureia		Alta Ureia		<i>P</i> - valor		
	Sem ET	Com ET	Sem ET	Com ET	Ureia	ET	Ureia x ET
Ace	2499,8 ± 153,12	2491,6 ± 80,90	2478,7 ± 102,11	2483,0 ± 48,89	NS	<0,05	NS
Chao1	2512,2 ± 132,50	2492,8 ± 98,45	2495,4 ± 115,67	2507,95 ± 79,12	NS	<0,05	NS
Shannon-Wiener	9,000 ± 0,13	8,950 ± 0,22	8,880 ± 0,39	8,915 ± 0,13	NS	NS	NS
Simpson	0,993 ± <0,01	0,992 ± <0,01	0,992 ± <0,01	0,992 ± <0,01	NS	<0,05	NS

**P* - valor com base no teste de Friedman.

Declaração de Responsabilidade

As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas nesse material são de responsabilidade da autora e não necessariamente refletem a visão da FAPESP e da CAPES.