

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 15/12/2024.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA-UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EFICIÊNCIA DE USO DE AMINOÁCIDOS E
COMUNIDADE MICROBIANA RUMINAL EM
BOVINOS EM PASTEJO, NO PERÍODO ÁGUAS E
SECAS E SUPLEMENTADOS COM FONTES DE PNDR.**

Kênia Larissa Gomes Carvalho Alves
Zootecnista

2023

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA-UNESP
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EFICIÊNCIA DE USO DE AMINOÁCIDOS E
COMUNIDADE MICROBIANA RUMINAL EM
BOVINOS EM PASTEJO NO PERÍODO ÁGUAS E
SECAS E SUPLEMENTADOS COM FONTES DE PNDR.**

Kênia Larissa Gomes Carvalho Alves

Orientadora: Profa. Dra. Telma Teresinha Berchielli

Co-orientadoras: Dra. Juliana Duarte Messana

Dra. Yury Tatiana Granja-Salcedo

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do Título de Doutora em Zootecnia (Nutrição e Alimentação Animal).

2023

A474e

Alves, Kênia Larissa Gomes Carvalho

Eficiência de uso de aminoácidos e comunidade microbiana ruminal em bovinos em pastejo, no período águas e secas e suplementados com fontes de pndr / Kênia Larissa Gomes Carvalho Alves. -- Jaboticabal, 2023

105 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Telama Terisinha Berchielli

Coorientadora: Juliana Duarte Messana

1. Aminoácidos. 2. Farelo de soja protegido. 3. Fibrobacter. 4. Glúten de milho. 5. Prevotellaceae.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: EFICIÊNCIA DE USO DE AMINÓCIDOS E COMUNIDADE MICROBIANA RUMINAL EM BOVINOS EM PASTEJO, PERÍODO ÁGUAS E SECAS, SUPLEMENTADOS COM FONTES DE PNDR

AUTORA: KÊNIA LARISSA GOMES CARVALHO ALVES

ORIENTADORA: TELMA TERESINHA BERCHIELLI

COORIENTADORA: YURY TATIANA GRANJA-SALCEDO

COORIENTADORA: JULIANA DUARTE MESSANA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Zootecnia, pela Comissão Examinadora:

Pós-doutoranda JULIANA DUARTE MESSANA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
JULIANA DUARTE MESSANA
Data: 15/12/2022 15:47:19-0300
Verifique em <https://verificador.dfe.br>

Prof. Dr. RICARDO ANDRADE REIS (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
RICARDO ANDRADE REIS
Data: 15/12/2022 08:35:48-0300
Verifique em <https://verificador.dfe.br>

Pesquisadora Dra. RENATA HELENA BRANCO ARNANDES (Participação Virtual)
Instituto de Zootecnia / Sertãozinho/SP

Prof. Dr. GIOVANI FIORENTINI (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia/Universidade Federal de Pelotas / Pelotas/RS

Giovani Fiorentini

Pós-doutoranda LORRAYNY GALORO DA SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal

Lorrayny S.

Jaboticabal, 15 de dezembro de 2022

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Câmpus de
Jaboticabal -
Via de Acesso Professor Paulo Donato Castellani, s/n, 13886-000
<https://www.fca.unesp.br/> (F1) <https://portal.unesp.br/fca> (F2) <https://portal.unesp.br/fca> (F3)
08.033.918/0012-87



Assinado em senha por RENATA HELENA BRANCO ARNANDES - Diretor Técnico de Departamento / APTA-DGE-DG - 19/12/2022 às 15:51:30.
60329899-7375 - consulta à autenticidade em <https://www.documentos.spsistemas.unesp.br/sigaes/public/apo/autenticar?m=60329899-7375>



SIGACAP2 02 22 34 56

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Kênia Larissa Gomes Carvalho Alves – Nascida na cidade de Araçatuba-SP, em 09 de maio de 1988, filha de Vera Lúcia Gomes Carvalho Alves e Cláudio Carvalho Alves. De 2012 a 2016 desenvolveu o curso de graduação em Zootecnia da Faculdade de Agronomia e Zootecnia da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Campus Cuiabá, sendo foi bolsista de iniciação científica do CNPq sobre a orientação da professora Dra. Rosemary Laís Galati. De 2017 a 2019 desenvolveu o Mestrado em Zootecnia, área de nutrição e alimentação animal, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal, sob a orientação da Profa. Dra. Telma Teresinha Berchielli e bolsista CNPq e FAPESP. Em março de 2019 ingressou no curso de Doutorado em Zootecnia, área de nutrição e alimentação animal, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal, sob a orientação da Profa. Dra. Telma Teresinha Berchielli e bolsista CNPq.

MENSAGEM

“Se tentaram matar os teus sonhos
Sufocando o teu coração
Se lançaram você numa cova
E, ferido, perdeu a visão

Não desista, não pare de crer
Os sonhos de Deus jamais vão morrer
Não desista, não pare de lutar
Não pare de adorar”
(música: **Os sonhos de Deus- Gabriela Rocha**)

Dedico

Aos meus pais **Cláudio Carvalho Alves**
e **Vera Lúcia Gomes Carvalho Alves**.

Aos meus irmãos **Karine** e **Rodrigo**.

Aos meus sobrinhos **Bernardo, Kal** e **Cecília**

e a toda **minha família**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus que me deu força e sabedoria para continuar e concluir mais esta etapa de minha vida.

À minha família, meus pais Cláudio e Vera, meus irmãos Karine e Rodrigo, meus sobrinhos que amo muito Bernardo, Kal e Cecília. Ao Leandro pelas conversas e incentivos. A Karina Bandeira Barros que por toda sua vida me incentivou nos meus estudos e me comprometo fazer o mesmo pelo Kal.

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

A outorgante, processo número 140912/2019-3, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa concedida. E a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento concedido por meio do processo número 2016/12992-6.

As minhas orientadoras Prof. Dr^a. Telma Teresinha Berchielli, Dr^a Juliana Duarte Messana e Dr^a Yury Tatiana Granja-Salcedo pela paciência e ensinamentos durante todo este período de execução do trabalho.

Aos professores Ricardo Andrade Reis, Flávia Adriane Sales Silva, Luciano da Silva Cabral, Renata Helena Branco Arnades e Giovani Fiorentini. As pesquisadoras Dr^a Márcia Helena Machado da Rocha Fernandes e Lorryny Galoro da Silva que contribuíram com este trabalho em forma de discussão de dados no exame de defesa de projeto, qualificação e defesa de tese.

A Paloma Helena Gonçalves por dividir esse doutorado comigo, agradeço por toda alegria e choro compartilhado até o final. Acredito no propósito desse encontro, que proporcionou e proporciona grandes ensinamentos. Ao Vlade pela paciência e ajuda durante todo o experimento. Aos estagiários que ajudaram proporcionando o seu melhor, muito obrigada.

Aos amigos que me ajudaram a manter constância até o final do doutorado com o apoio, ensinamentos e muitas risadas: Rayanne, Karine, Laura, Sérgio, Vinicius, Lucas,

Helo, Thuanny, Edvania, Isis, Lais, Carlos Eduardo, Arthur, Leni, Isabela, Ana Paula, Marina, Junior, Tito Júlia, Maria Carolina, Juliana, João e Érika.

A Priscila que me ajudou a manter a saúde mental, não teria conseguido sem seu apoio.

A todos muito obrigada!



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "**Impacto da proteína metabolizável na produção de bovinos de corte e emissão de gases do efeito estufa**", protocolo nº 16.688/16, sob a responsabilidade da Profª Drª Telma Teresinha Berchielli, 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 da 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 novembro de 2016.

Vigência do Projeto	01/03/2017 a 01/03/2022
Espécie / Linhagem	<i>Bos indicus</i> (Bovino Nelore)
Nº de animais	112
Peso / Idade	200 kg
Sexo	Machos
Origem	Fazenda

Jaboticabal, 04 de novembro de 2016.


Profª Drª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

EFICIÊNCIA DE USO DE AMINOÁCIDOS E COMUNIDADE MICROBIANA RUMINAL EM BOVINOS EM PASTEJO, NO PERÍODO ÁGUAS E SECAS E SUPLEMENTADOS COM FONTES DE PNDR

Resumo: Objetivou-se avaliar o efeito de diferentes fontes proteicas (sal mineral, farelo de soja, farelo de soja protegido e glúten de milho) sobre o consumo de matéria seca e nutrientes, parâmetros ruminais, fluxo e digestibilidade de AA, diversidade microbiana ruminal e parâmetros sanguíneos em bovinos Nelore mantidos a pasto durante período de águas e seca. No experimento 1 - capítulo 2 - foram utilizados seis novilhos, canulados no rúmen e duodeno, distribuídos em delineamento *cross over* recebendo um dos três suplementos: 1) suplementação com sal mineral (SM) ad libitum; 2) suplementação com 0,3% PC de farelo de soja protegido (FSP) e 3) suplementação com 0,3% PC de glúten de milho (GM) durante três períodos experimentais. O consumo de AA totais, aminoácidos essenciais (AAE) e aminoácidos não essenciais (AANE) foi 30% maior nos animais suplementados com FSP e GM quando comparado ao SM ($P < 0,05$). Animais suplementados com GM e FSP tenderam a apresentar fluxo de AA individuais similares ($P \geq 0,01$) e ambas as fontes resultaram em maior de fluxo de Met, Phe, Val, Ala, Cis, Glu, Ser e Tir quando comparada a SM ($P \leq 0,01$). A proteína total plasmática foi superior em animais suplementados com FSP quando comparada aos SM ($P = 0,049$), a ureia plasmática apresentou maior concentração em animais suplementados com GM em comparação com SM ($P = 0,038$). Entre os filos encontrados, o filo SR1_ (Absconditabacteria) estiveram presentes, em média de 6,69%, somente nos tratamentos SM e FSP. A suplementação com fontes de PNDR proporcionou maior diversidade microbiana associada ao consumo de AA individuais, tais achados refletiram em maior aporte de proteína metabolizável que chega ao duodeno pelo fluxo de AA totais, AAE e AANE. No experimento 2 - capítulo 3 - foram utilizados oito bovinos Nelore, canulados no rúmen e duodeno, distribuídos em delineamento *cross over*. Os animais receberam 1,8% peso corporal do suplemento (suplementação intensiva a pasto, período seco) composto por polpa cítrica, milho, sal mineral e umas das diferentes fontes proteicas: 1) farelo de soja (FS) como fonte de PDR; 2) farelo de soja protegido (FSP) como fonte de PNDR; 3) glúten de milho 60 (GM) como fonte de PNDR. O consumo de PDR foi maior em animais suplementados com FS em comparação com FSP e GM. O consumo de AA totais e AANE (kg/dia) foram superiores para com GM em comparação com outros suplementos (GM vs FS, 22,43%, e GM vs FSP, 30,61%). A concentração isovalerato foi 27,10% menor para FSP comparado com FS. A suplementação com FSP e GM proporcionou maior abundância relativa do Methonosphaera ($P = 0,024$) comparado a FS. O gênero Thermoplasmatales_Incertae_Sedis_Uncultured apresentou maior abundância relativa na suplementação com FSP em comparação FS. A família Bacteroidales com gêneros distintos foram diferentes entre as suplementações, apresentando maior abundância relativa com FS. O gênero Fibrobacter tendeu à maior abundância relativa quando os animais recebiam FS e FSP ($P = 0,087$). FSP e GM tendeu à maior abundância relativa dos gêneros Christensenellaceae Uncultured ($P = 0,058$), Lachnospiraceae_ND3007_group ($P = 0,065$) e resultou em maior abundância da família Mycoplasmataceae ($P = 0,032$). A suplementação com FS resultou em digestibilidade aparente ruminal da proteína

bruta 7,82% superior quando comparada a GM. Em relação aos AA individuais, a suplementação com FSP proporcionou um aumento de 17,77% na digestibilidade intestinal da arginina quando comparada a animais que foram suplementados com FS. A concentração plasmática de lisina foi superior em 55,81% em animais suplementados com FSP e GM em comparação com FS. Concluímos que a terminação intensiva a pasto, com diferentes fontes proteicas promoveu a alteração na abundância relativa da diversidade ruminal dos gêneros Christensenellaceae Uncultured, Lachnospiraceae_ND3007_group e Mycoplasmataceae e as metanogênicas Methanosphaer e fontes com maiores teores de PNDR alteram a digestibilidade aparente intestinal dos AA de forma individual, sendo GM com maiores valores de digestibilidade intestinal em comparação com FSP. Concluímos que as fontes proteicas proporcionaram modificação na diversidade microbiana no ambiente ruminal em bovinos Nelores no sistema de pastejo em diferentes estações do ano.

PALAVRAS-CHAVE: aminoácidos, farelo de soja, farelo de soja protegido, glúten de milho, Fibrobacter, Prevotellaceae Thermoplasmatales incertae sedis

EFFICIENCY OF USE OF AMINO ACIDS AND RUMINAL MICROBIAL COMMUNITY IN BOVINE GRAZING IN THE WET AND DRY PERIODS AND SUPPLEMENTED WITH PNDP SOURCES

Abstract: The objective was to evaluate the effect of different protein sources (mineral salt, soybean meal, protected soybean meal and corn gluten) on the intake of dry matter and nutrients, ruminal parameters, flow and digestibility of AA, ruminal microbial diversity and blood parameters in Nelore cattle kept on pasture during wet and dry periods. In chapter 2, six steers were used, cannulated in the rumen and duodenum, distributed in a cross over design receiving one of the three supplements: 1) supplementation with mineral salt (SM) *ad libitum*; 2) supplementation with 0.3% BW protected soybean meal (FSP) and 3) supplementation with 0.3% BW corn gluten (GM) during three experimental periods. The consumption of total AA, essential amino acids (EAA) and non-essential amino acids (AANE) was 30% higher in animals supplemented with FSP and GM when compared to SM ($P < 0.05$). Animals supplemented with GM and FSP tended to have similar individual AA flux ($P \geq 0.01$) and both sources resulted in greater flux of Met, Phe, Val, Ala, Cys, Glu, Ser and Thr when compared to SM ($P \leq 0.01$). Total plasma protein was higher in animals supplemented with FSP when compared to SM ($P = 0.049$), urea had a higher plasma concentration with GM compared to SM ($P = 0.038$). Among the phyla found, the phylum SR1_(Absconditabacteria) were present, on average 6.69%, only in the SM and FSP treatments. Supplementation with PNDP sources provided greater microbial diversity associated with the consumption of individual AA, such findings reflected in a greater supply of metabolizable protein that reaches the duodenum through the flow of total AA, AAE and AANE. In chapter 3, eight Nelore cattle, cannulated in the rumen and duodenum, were distributed in a cross over design, in the dry period with intensive supplementation to pasture. The animals received 1.8% body weight of the supplement composed of citrus pulp, corn, mineral salt and one of the different protein sources: 1) soybean meal (SF) as a source of PDR; 2) protected soybean meal (FSP) as a source of PNDP; 3) corn gluten 60 (GM) as source of PNDP. The consumption of PDR was higher in animals supplemented with FS compared to FSP and GM (FS vs. consumption of total AA and AANE (kg/day) was higher for with GM compared to other supplements (GM vs FS 22.43% and GM vs FSP 30.61%). Isovalerate concentration was 27.10% lower for FSP compared to FS. Supplementation with FSP and GM provided greater relative abundance of the *Methonosphaera* ($P = 0.024$) compared to FS. The genus *Thermoplasmatales_Incertae_Sedis_Uncultured* showed greater relative abundance in supplementation with FSP compared to FS. The Bacteroidales family with different genera were different between supplementations, showing greater relative abundance with FS. The genus *Fibrobacter* tended to be more relative abundance when animals received FS and FSP ($P = 0.087$). FSP and GM tended to greater relative abundance of the genera *Christensenellaceae* *Uncultured* ($P = 0.058$), *Lachnospiraceae_ND3007_group* ($P = 0.065$) and resulted in greater abundance. that of the *Mycoplasmataceae* family ($P = 0.032$). Supplementation with FS resulted in ruminal apparent digestibility of crude protein 7.82% higher when compared to GM. Regarding individual AA, supplementation with FSP provided an increase of 17.77% in the intestinal

digestibility of arginine when compared to animals that were supplemented with PS. Plasma lysine concentration was 55.81% higher in animals supplemented with FSP and GM compared to FS. We conclude that intensive finishing on pasture, with different protein sources, promoted changes in the relative abundance of ruminal diversity of the genera Christensenellaceae Uncultured, Lachnospiraceae_ND3007_group and Mycoplasmataceae and the methanogenic Methanosphaera and sources with higher levels of PNDR alter the apparent intestinal digestibility of AA individually, being GM with higher values of intestinal digestibility compared to FSP. We conclude that the protein sources provided modification in the microbial diversity in the ruminal environment of Nellore cattle in the grazing system in different seasons.

KEYWORDS: amino acids, soybean meal, protected soybean meal, corn gluten, Fibrobacter, Prevotellaceae Thermoplasmatales incertae sedis

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, o sistema de produção dos ruminantes é em sua maior parte a pasto, (Martins, 2021) o qual no período chuvoso apresenta boa disponibilidade proteica (9 a 13%) e os valores de fibra em detergente neutro variam de 61 a 65% (da Silva-Marques et al., 2018; Ferrari et al., 2021; Simioni et al., 2022) sendo potencialmente mais disponível a fermentação microbiana ruminal (Detmann et al., 2010; Detmann et al., 2014). No entanto, nesse período a suplementação com 0,3% do peso corporal (PC) pode fornecer aos animais ganhos adicionais médios de 200 g/animal/dia (Poppi e McLennan, 1995, Paulino et al., 2008, Camargo et al., 2022), pois melhora o uso de carboidratos e compostos nitrogenados que chegam ao rúmen (Reis et al., 2015), proporcionando um maior uso dos mesmos pelos microrganismos ruminais (Huws et al., 2018), além de fornecer um aporte adicional de AA advindo da proteína não degradada no rúmen (PNDR) (Camargo et al., 2022).

O requerimento nutricional de proteína de bovinos é suprido pela proteína microbiana (Pmic), podendo esta corresponder a 59% do fluxo total de nitrogênio para o duodeno (Clark et al., 1992), e pela PNDR, em novilhos de alta produção, a qual representa um importante contribuinte para AA metabolizável (Batista et al., 2016; de Souza et al., 2020). No entanto, mudanças na disponibilidade ruminal de proteína e energia para o crescimento microbiano influenciam a diversidade microbiana influenciando a eficiência alimentar e eficiência de retenção de nitrogênio (Myer et al., 2015; Wang et al., 2019; Alves et al., 2020).

Os estudos sobre a diversidade microbiana relataram que os microrganismos do ambiente ruminal tem preferências pelo uso de amônia (NH₃), peptídeos ou AA específicos para síntese proteica, sendo a disponibilidade destes relacionada a maior ou menor eficiência de utilização de nitrogênio (EUN) (Russel et al., 1983; Hackmann e Firkins, 2015; Wang et al., 2018). Bactérias celulolíticas, como *Ruminococcus albus*, *R. flavefaciens*, *Fibrobacter succinogenes* e *Butyrivibrio fibrosolvens*, sintetizam enzimas e podem incorporar NH₃ e esqueletos de carbono para sintetizar seu próprio AA para crescimento bacteriano (Antonopoulos et al., 2003; Ataşoğlu et al., 1999).

Segundo Russell et al. (1985), os microrganismos que utilizam carboidratos não fibrosos podem utilizar até 66% de peptídeos para síntese de Pmic. *Streptococcus bovis*, tem uma taxa de crescimento de 0,9/h com NH₃ e de 1,6/h quando AA e peptídeos são fornecidos na dieta (Russell et al., 1993). Assim, pode se considerar que AA e peptídeos potencializam a síntese

de Pmic e a EUN. De acordo com Kozloski (2011), quando AA pré-formados são limitantes existe uma queda na taxa de crescimento, e o balanço das taxas de anabolismo e catabolismos resultam em um aumento no gasto de energia pelo animal. Estudos indicam que AA de cadeia ramificada (Leu e Ileu) e aromática (Phe e Tyr) são utilizados em maior extensão que outros AA advindos da *síntese de novo* (Atasoglu et al. 1999).

Estudos com ruminantes indicaram que a alta proporção de forragem na dieta pode reduzir o fluxo de AA totais que chega no intestino delgado, afetando os AA individuais que sofrerão ação das enzimas e que estarão disponíveis para absorção neste compartimento (Li et al., 2012, Zhao et al., 2020). Em contraste, o aumento do teor de proteína da dieta resulta em maior fluxo de AA totais no intestino delgado. Além disso, a utilização de AA individuais (arginina, histidina, metionina, ácido glutâmico e glicina) pode proporcionar maior retenção de proteína a composição corporal, influenciando na produção de carne pelo animal (Mariz et al., 2018). Por isso, nutricionistas de ruminantes principalmente em sistema de pastejo, devem explorar a forrageira fornecida e com o auxílio da suplementação, proporcionar um produto de alta qualidade ao consumidor.

Assim, este estudo tem como hipótese que a suplementação com fontes de PNDR em animais a pasto no período das águas pode favorecer grupos de bactérias fibrolíticas e proteolíticas, utilizadoras de amônia no rúmen, modulando o ecossistema ruminal e aumentando o fluxo e digestibilidade de AA que chegam ao duodeno. Portanto, objetivou-avaliar o efeito da suplementação com diferentes fontes de PNDR sobre a diversidade microbiana ruminal, o fluxo e a digestibilidade duodenal de bovinos Nelore mantidos em pasto no período das de águas.

5. CONCLUSÃO

A terminação intensiva a pasto com suplementação de diferentes fontes proteicas fornecedoras de PNDR favoreceu a abundância relativa ruminal dos gêneros Christensenellaceae Uncultured, Lachnospiraceae_ND3007_group e Mycoplasmataceae e as metanogênicas Methanospira. Além disso, o uso do GM como fonte proteica aumentou a digestibilidade aparente intestinal dos AA.,

6. REFERÊNCIAS

ABIEC (2022), Beff report -Perfil da Pecuária no Brasil 2022- disponível <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2022/> último acesso 28/07/2022

Alves, K. L. G. C., Granja-Salcedo, Y. T., Messana, J. D., de Souza, V. C., Ganga, M. J. G., Colovate, P. H. D., Kishi, L. T., Berchielli, T. T. (2021). Rumen bacterial diversity in relation to nitrogen retention in beef cattle. **Anaerobe**, 67, 102316.

Antonopoulos, D. A., Aminov, R. I., Duncan, P. A., White, B. A., & Mackie, R. I. (2003). Characterization of the gene encoding glutamate dehydrogenase (gdhA) from the ruminal bacterium Ruminococcus flavefaciens FD-1. *Archives of microbiology*, 179(3), 184-190.

AOAC. (1995) Association of Official Analytical Chemists, 16th ed. Association of Official Analytical Methods Inc., Washington, D.C., USA.

Arrazuria, R., Caddey, B., Cobo, E. R., Barkema, H. W., & De Buck, J. (2021). Effects of different culture media on growth of *Treponema* spp. isolated from digital dermatitis. **Anaerobe**, 69, 102345.

Atasoglu, C., Valdés, C., Newbold, C. J., Wallace, R. J. (1999). Influence of peptides and amino acids on fermentation rate and de novo synthesis of amino acids by mixed micro-organisms from the sheep rumen. *British Journal of Nutrition*, 81(4), 307-314.

Bach, A., Calsamiglia, S., Stern, M. D. (2005) Nitrogen Metabolism in the Rumen. **Journal. Dairy Science**. 88, p. E9-E21.

Batista E.D., Detmann E, Titgemeyer E.C., Valadares Filho S.C., Valadares, R.F.D., Prates, L.L., Paulino, M. F. (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** v. 94, n. 1, p. 201-216.

Cai, Y., Zheng, Z., & Wang, X. (2021). Obstacles faced by methanogenic archaea originating from substrate-driven toxicants in anaerobic digestion. **Journal of Hazardous Materials**, 403, 123938.

Cecava, M. J., Merchen, N. R., Gay, L. C., & Berger, L. L. (1990). Composition of ruminal bacteria harvested from steers as influenced by dietary energy level, feeding frequency, and isolation techniques. **Journal of Dairy Science**, 73(9), 2480-2488.

Cidrini, I. A., Granja-Salcedo, Y. T., Prados, L. F., Kishi, L. T., Siqueira, G. R., Resende, F. D. (2022). Effect of tannin extract associated with two levels of non-protein nitrogen in the supplement on performance, ruminal parameters, and microbial diversity of grazing Nellore cattle during the growing phase at dry season. **Animal Feed Science and Technology**, 286, 115269.

Dallantonia, E. E., da Rocha Fernandes, M. H. M., da Silva Cardoso, A., Leite, R. G., Ferrari, A., Ongaratto, F., Reis, R. A. (2021). Performance and greenhouse gas emission of Nellore and F1 Angus× Nellore yearling bulls in tropical production systems during backgrounding and finishing. **Livestock Science**, 251, 104646.

de Souza, V. C, Messana, J. D, Batista, E.D, Alves, K. L G. C., Titgemeyer, E. C., Pires, A V., Ferraz Junior, M. V., Silva, L. G., Negrão, J. A., Costa, V. E., Ganga, M.J. G., Colovate, P.H. D., Berchielli, T. T. (2021). Effects of protein sources and inclusion levels on nitrogen metabolism and urea kinetics of Nellore feedlot steers fed concentrate-based diets. **Journal of animal science**, 99(8), skab185.

de Souza, V. C., Messana, J. D., Batista, E. D., Alves, K. L. G. C., Dias, A. V. L., Campos, L. M., Lima, L. O., Granja-Salcedo, Y. T., Faria, L. R., Carvalho, G. M., Pires, A. V., Berchielli, T. T. (2020). Assessing amino acid utilization in young Nellore steers fed high-concentrate diets with different sources and levels of nitrogen. **Animal Feed Science and Technology**, 269, 114642.

Deeney, A. S., Collins, R., & Ridley, A. M. (2021). Identification of Mycoplasma species and related organisms from ruminants in England and Wales during 2005–2019. **BMC Veterinary Research**, 17(1), 1-12.

Detmann, E., Valente, E.E.L., Batista, E.D., Huhtanen, P., (2014). An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livest. Sci.** 162, 141–153.

Fenner, H. (1965) Method for determining total volatile bases in rumen fluid by steam distillation. *Journal of Dairy Science*, v.48, p. 249–251. for whole-body deposition. **J. Anim. Sci.** 96, 670–683.

Figueiras, J. F., Detmann, E., Paulino, M. F., Valente, T. N. P., Valadares Filho, S. D. C., Lazzarini, I. (2010). Intake and digestibility in cattle under grazing supplemented with nitrogenous compounds during dry season. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 39, 1303-1312.

Fleming, A. J., Estes, K. A., Choi, H., Barton, B. A., Zimmerman, C. A., & Hanigan, M. D. (2018). Assessing bioavailability of ruminally protected methionine and lysine prototypes. **Journal of dairy science**, 102(5), 4014-4024.

Gargallo, S., Ferret, A., Calsamiglia, S. (2022). Ruminal Microbial Degradation of Individual Amino Acids from Heat-Treated Soyabean Meal and Corn Gluten Meal in Continuous Culture. **Animals**, 12(6), 688.

Granja-Salcedo YT, Ramirez-Uscategui RA, Machado EG, Messana JD, Kishi LT, Dias AVL, Berchielli TT (2017). Studies on bacterial community composition are affected by the time and storage method of the rumen content. **PloS one**, v12, p(4), e0176701

Guimarães T.P (2015) Exigências Proteicas para bovinos de corte. **Multi-Science Journal**.;1(1):90-9.

Hagen, S.R., Augustin, J., Grings, E., Tassinari, P., 1993. Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of free amino acids in biological samples. **Food Chem.** 46, 319–323.

Harvatine, K.J.; Allen, M.S. (2006) Fat supplements affect fractional rates of ruminal fatty acid biohydrogenation and passage in dairy cows. **Journal of Nutrition**, v. 136, p. 677– 685.

Hassan, F. U., Guo, Y., Li, M., Tang, Z., Peng, L., Liang, X., & Yang, C. (2021). Effect of methionine supplementation on rumen microbiota, fermentation, and amino acid metabolism in in vitro cultures containing nitrate. **Microorganisms**, 9(8), 1717.

Henderson, G.; Cox, F.; Kittelmann, S.; Heidarian, M.V.; Zethof, M.; Noel, S.J.; Waghorn, G.C.; Janssen, P.H. (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.

Hoedt, E. C., Parks, D. H., Volmer, J. G., Rosewarne, C. P., Denman, S. E., McSweeney, C. S., ... & Morrison, M. (2018). Culture-and metagenomics-enabled analyses of the *Methanosphaera* genus reveals their monophyletic origin and differentiation according to genome size. **The ISME journal**, 12(12), 2942-2953.

Huang, J., Wu, T., Sun, X., Zou, C., Yang, Y., Cao, Y., ... & Lin, B. (2020). Effect of replacing conventional feeds with tropical agricultural by-products on the growth performance, nutrient digestibility and ruminal microbiota of water buffaloes. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, 104(4), 1034-1042.

Huws, S. A., Creevey, C. J., Oyama, L. B., Mizrahi, I., Denman, S. E., Popova, M., Muñoz-Tamayo, R., Forano, E., Waters, S.M., Hess, M., Tapio, I., Smidt, H., Krizsan, S. J., Yáñez-Ruiz, D. R., Belanche A., Guan, L.L., Gruninger, R.J., McAllister, T.A., Newbold C.J., Roehe, R., Dewhurst, R. J., Snelling, T. J., Watson, M., Suen, G., Hart, E.H., Kingston-Smith, A. H., Scollan, N. D., Prado, R.M., Pilau, E. J., Mantovani, H. C., Attwood, G. T., Edwards, J. E., 23, McEwan, N. R., Morrisson, S., Mayorga, O. L., Elliott, C., Morgavi, D. P. (2018). Addressing global ruminant agricultural challenges through understanding the rumen microbiome: past, present, and future. **Frontiers in microbiology**, 9, 2161.

Jayanegara, A., Dewi, S. P., Laylli, N., Laconi, E. B., Nahrowi, N., & Ridla, M. (2016). Determination of cell wall protein from selected feedstuffs and its relationship with ruminal protein digestibility in vitro. **Media Peternakan**, 39(2), 134-140.

Kang, S., Wanapat, M., Phesatcha, K., & Norrapoke, T. (2015). Effect of protein level and urea in concentrate mixture on feed intake and rumen fermentation in swamp buffaloes fed rice straw-based diet. **Tropical Animal Health and Production**, 47(4), 671-679.

Kozloski, G. V., Netto, D. P., Oliveira, L. D., Maixner, A. R., Leite, D. T., Maccari, M., Quadros, F. L. F. D. (2006). Chromium oxide use as a marker for measuring fecal production of grazing cattle: estimative variations due to sampling schedule. **Ciência Rural**, 36, 599-603.

Leventini, M. W., C. W. Hunt, R. E. Roffler, and D. G. Casebolt. (1990). Effect of dietary level of barley-based supplements and ruminal buffer on digestion and growth by beef cattle. *J. Anim. Sci.* 68:4334–4344

Li, C., Li, J. Q., Beauchemin, K. A., Yang, W. Z. (2012). Forage proportion and particle length affects the supply of amino acids in lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, 95(5), 2685-2696.

Liu, Q., Wang, C., Huang, Y. X., Dong, K. H., Yang, W. Z., Zhang, S. L., & Wang, H. (2009). Effects of isovalerate on ruminal fermentation, urinary excretion of purine derivatives and digestibility in steers. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, 93(6), 716-725.

Liu, Y., Wu, H., Liu, C., & Zhou, Z. (2022). Rumen Microbiome and Metabolome of High and Low Residual Feed Intake Angus Heifers. **Frontiers in veterinary science**, 341.

Mariz, L. D. S., Amaral, P. M., Valadares Filho, S. C., Santos, S. A., Detmann, E., Marcondes, M. I., Faciola, A. P. (2018). Dietary protein reduction on microbial protein, amino acid

digestibility, and body retention in beef cattle: 2. Amino acid intestinal absorption and their efficiency for whole-body deposition. **Journal of Animal Science**, 96(2), 670-683.

Matsuaki, M.; Takizawa, S.; Ogawa, M. Plasma insulin, metabolite concentrations, and carcass characteristics of Japanese Black, Japanese Brown, and Holstein steers. **Journal of Animal Science**, v.75, p.3287-3293, 1997.

Mertens, D.R (2002). Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **Journal AOAC International.**, v.85, p.1217-1240.

Mott, G. O.; Lucas, H. L. The design conduct and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. **In: International Grassland Congress**, 6, (1952), Pennsylvania State College, 1952. p.1380-1395.

Nichols, K., Bannink, A., Pacheco, S., Van Valenberg, H. J., Dijkstra, J., & Van Laar, H. (2018). Feed and nitrogen efficiency are affected differently but milk lactose production is stimulated equally when isoenergetic protein and fat is supplemented in lactating dairy cow diets. **Journal of dairy science**, 101(9), 7857-7870.

NRC. (2001) Nutrient requirements of beef cattle, n. 8. rev. ed. National Academy Press, Washington, D.C.

Ogunade, I., Schweickart, H., McCoun, M., Cannon, K., & McManus, C. (2019). Integrating 16S rRNA sequencing and LC–MS-based metabolomics to evaluate the effects of live yeast on rumen function in beef cattle. **Animals**, 9(1), 28.

Ribeiro Júnior, C. S., Messana, J. D., Granja-Salcedo, Y. T., Canesin, R. C., Fiorentini, G., San Vito, E., ... & Berchielli, T. T. (2016). Parameters of fermentation and rumen microbiota of Nellore steers fed with different proportions of concentrate in fresh sugarcane containing diets. **Archives of Animal Nutrition**, 70(5), 402-415.

Ribeiro, G. O., Gruninger, R. J., Jones, D. R., Beauchemin, K. A., Yang, W. Z., Wang, Y., McAllister, T. A. (2020). Effect of ammonia fiber expansion-treated wheat straw and a recombinant fibrolytic enzyme on rumen microbiota and fermentation parameters, total tract digestibility, and performance of lambs. **Journal of animal science**, 98(5), skaa116.

Roth, M. T. P., Resende, F. D., Oliveira, I. M., Fernandes, R. M., Custódio, L., Siqueira, G. R. (2017). Does supplementation during previous phase influence performance during the growing and finishing phase in Nellore cattle? **Livestock Science**, 204, 122-128.

Saro, C.; Ranilla, M. J.; Carro, M.D. (2012) Postprandial changes of fiber-degrading microbes in the rumen of sheep fed diets varying in type of forage as monitored by realtime PCR and automated ribosomal intergenic spacer analysis. **Journal of Animal Science**, v.90, p.4487–4494.

Serafim, J. A., Silveira, R. F., & Vicente, E. F. (2021). Fast Determination of Short-Chain Fatty Acids and Glucose Simultaneously by Ultraviolet/Visible and Refraction Index Detectors via High-Performance Liquid Chromatography. **Food Analytical Methods**, 14(7), 1387-1393.

Shibao, J., Bastos, D.H.M. (2011) Produtos da reação de Maillard em alimentos: implicações para a saúde. **Revista de Nutrição**, 24(6), 895-904.

Soest, P. V. (1963). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. **Journal of the Association of official Agricultural Chemists**, 46(5), 829-835.

Tan, P., Liu, H., Zhao, J., Gu, X., Wei, X., Zhang, X., Ma, X. (2021). Amino acids metabolism by rumen microorganisms: Nutrition and ecology strategies to reduce nitrogen emissions from the inside to the outside. **Science of the Total Environment**, 800, 149596.

Tatarinova, T. V., Lysnyansky, I., Nikolsky, Y. V., & Bolshoy, A. (2016). The mysterious orphans of Mycoplasmataceae. **Biology direct**, 11(1), 1-15.

Valente, T.N.P.; Detmann, E.; Valadares Filho, S.C.; Cunha, M.D.;Queiroz, A.C.; Sampaio, C.B. (2011) In situ estimation of indigestible compounds contents in cattle 59 feed and feces using bags made from different textiles. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 40(3), 666–675.

Wang, L., Zhang, K., Zhang, C., Feng, Y., Zhang, X., Wang, X., Wu, G. (2019). Dynamics and stabilization of the rumen microbiome in yearling Tibetan sheep. **Scientific reports**, 9(1), 1-9.

Wu, J., Zhang, X., Wang, R., Wang, M., He, Z., Tan, Z., Jiao, J. (2020). Replacing corn grain with corn gluten feed: Effects on the rumen microbial protein synthesis, functional bacterial groups and epithelial amino acid chemosensing in growing goats. **Animal Feed Science and Technology**, 270, 114684.

Xia, C., Rahman, M. A. U., Yang, H., Shao, T., Qiu, Q., Su, H., & Cao, B. (2018). Effect of increased dietary crude protein levels on production performance, nitrogen utilisation, blood metabolites and ruminal fermentation of Holstein bulls. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 31(10), 1643.

Zang, Y., Silva, L. H. P., Ghelichkhan, M., Miura, M., Whitehouse, N. L., Chizzotti, M. L., Brito, A. F. (2019). Incremental amounts of rumen-protected histidine increase plasma and muscle histidine concentrations and milk protein yield in dairy cows fed a metabolizable protein-deficient diet. **Journal of dairy science**, 102(5), 4138-4154.