

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

SUPLEMENTAÇÃO ENERGÉTICA E USO DE TANINOS
CONDENSADOS COMO ESTRATÉGIAS PARA
INTENSIFICAÇÃO DA PECUÁRIA DE CORTE

Andressa Scholz Berça

Mestra em Zootecnia

Engenheira Agrônoma

2023

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

SUPLEMENTAÇÃO ENERGÉTICA E USO DE TANINOS
CONDENSADOS COMO ESTRATÉGIAS PARA INTENSIFICAÇÃO DA
PECUÁRIA DE CORTE

Discente: Andressa Scholz Berça

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis

Coorientador: Dr. Abmael da Silva Cardoso

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do Título de Doutor em Zootecnia.

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

B485s	Berça, Andressa Scholz Suplementação energética e uso de taninos condensados como estratégias para intensificação da pecuária de corte / Andressa Scholz Berça. -- Jaboticabal, 2023 130 p. : tabs. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Ricardo Andrade Reis Coorientador: Abmael da Silva Cardoso 1. Bovinos de Corte. 2. Horários de Suplementação. 3. Metano entérico. 4. Milho. 5. Polpa cítrica. I. Título.
-------	---

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.

Impacto potencial desta pesquisa

Em um cenário de intensificação sustentável da pecuária, é essencial a busca por fontes alternativas de energia, como os co-produtos da agroindústria, que além de não serem consumidos por humanos, são menos onerosos que os ingredientes tradicionalmente utilizados na nutrição de ruminantes. O uso de aditivos naturais como os taninos condensados consiste em uma estratégia eficiente para minimizar a contribuição negativa da pecuária para o aquecimento global, pela redução da emissão de gases de efeito estufa por bovinos.

Potential impact of this research

In a scenario of sustainable livestock intensification, the search for alternative sources of energy is essential, such as byproducts of agroindustry, that, in addition to not being consumed by humans, are less expensive than the ingredients traditionally used in ruminant nutrition. The use of natural additives such as condensed tannins is an efficient strategy to minimize the negative contribution of livestock to global warming, by reducing the emissions of greenhouse gases by cattle.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: SUPLEMENTAÇÃO ENERGÉTICA E USO DE TANINOS CONDENSADOS COMO ESTRATÉGIAS PARA INTENSIFICAÇÃO DA PECUÁRIA DE CORTE

AUTORA: ANDRESSA SCHOLZ BERÇA

ORIENTADOR: RICARDO ANDRADE REIS

COORIENTADOR: ABMAEL DA SILVA CARDOSO

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

Documento assinado digitalmente
gov.br RICARDO ANDRADE REIS
Data: 13/03/2023 14:36:08-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

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

Dra. MÁRCIA HELENA MACHADO DA ROCHA FERNANDES (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
gov.br MÁRCIA HELENA MACHADO DA ROCHA FERNANDES
Data: 15/03/2023 15:04:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. JULIANA DUARTE MESSANA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal

Documento assinado digitalmente
gov.br JULIANA DUARTE MESSANA
Data: 14/03/2023 09:01:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. LUIS ORLINDO TEDESCHI (Participação Virtual)
Department Of Animal Science - Texas A&M University System / College Station Texas-EUA

Luis Orlando Tedeschi
2023.03.17 09:36:38
+11'00'

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

Documento assinado digitalmente
gov.br RENATA HELENA BRANCO ARNANDES
Data: 14/03/2023 11:03:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 03 de março de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ANDRESSA SCHOLZ BERÇA – Nascida na cidade de São Paulo – SP, no dia 9 de fevereiro de 1994, filha de Pedro José de Berça e Myriam Cristina Scholz Berça. Em março de 2012 ingressou no curso de Engenharia Agrônômica do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos, câmpus de Araras-SP, graduando-se em julho de 2016. Em agosto de 2016 ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia, na área de forragicultura e pastagens, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, câmpus de Jaboticabal-SP (UNESP/FCAV), sob orientação da Profa. Dra. Ana Cláudia Ruggieri e coorientação do Dr. Abmael da Silva Cardoso. Em 9 de agosto de 2018 submeteu-se ao exame de qualificação de mestrado, tendo sido aprovada pela comissão examinadora. No período entre agosto e outubro de 2018, realizou seu estágio de treinamento na Texas A&M University – College Station, Texas, sob orientação do Prof. Dr. Luís Orlindo Tedeschi. Em 10 de dezembro de 2018 defendeu seu mestrado. Ingressou no curso de Doutorado em Zootecnia, na área de forragicultura e pastagens, na UNESP/FCAV, sob orientação do Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis e coorientação do Dr. Abmael da Silva Cardoso, tendo sido aprovada sua bolsa de Doutorado pela FAPESP. Em outubro de 2021 iniciou seu Doutorado Sanduíche com duração de 12 meses pela BEPE/FAPESP na Texas A&M University, sob orientação do Dr. Luís Tedeschi.

EPÍGRAFE

*“A maior glória de viver não está em nunca cair,
mas em nos levantar toda vez que caímos”*

Nelson Mandela

DEDICATÓRIA

À minha família, em especial aos meus pais, Pedro e Myriam, e à minha irmã Jacqueline, pelo amor, confiança e apoio incondicionais.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente eu agradeço à Deus, por iluminar os meus caminhos e por ter me capacitado e me dado sabedoria para alcançar meus objetivos.

Aos meus pais, Pedro e Myriam, por todo o amor, carinho, dedicação e confiança em todos os momentos de minha vida. Obrigada por me ensinarem o significado de família, por terem investido na minha educação, por me apoiarem em todas as minhas escolhas, por me incentivarem a ir em busca de meus sonhos e objetivos e principalmente por me ajudarem a chegar aonde cheguei. Obrigada por serem a minha base e o meu porto seguro.

À minha querida irmã, Jacqueline, por estar sempre conectada a mim independente da distância. Obrigada pelo amor, cumplicidade e por ser minha melhor amiga.

Às minhas avós, Maria Helena (*in memoriam*) e Myriam (*in memoriam*), que me deram todo o amor do mundo e proporcionaram os melhores momentos da minha vida, que jamais serão esquecidos. Serei eternamente grata por terem me criado e me ensinado o que é amar.

À toda a minha família, meus tios e tias, primos e primas, pelo carinho e por torcerem sempre por mim.

Ao meu querido orientador, Ricardo Reis, não só por exercer o seu papel de professor, como pela confiança, carinho, dedicação e por ter me proporcionado tantos ensinamentos e oportunidades de crescimento pessoal e profissional.

Ao meu coorientador e amigo Abmael, por ter me ensinado tanto, por confiar, e incentivar a pesquisa.

À minha companheira de experimento, Natália (Fiona), por não apenas ter dividido o trabalho comigo, mas por toda a amizade e companheirismo. Obrigada por estar ao meu lado em todos os momentos, pelas risadas, desabafos, por me ajudar a resolver os problemas da forma mais leve possível e por, juntas, cuidarmos do setor com tanto amor como se fosse nossa casa.

À minha melhor amiga de infância, Hanna, por estar há 23 anos ao meu lado, pela cumplicidade, carinho e apoio sempre.

A todos os estagiários do setor, especialmente à Isadora e aos meus co-orientados Willi, Isabela e Ygor, que ajudaram a conduzir o experimento com tamanho empenho e carinho. Aos colegas de pós-graduação, Fernando Ongaratto e Guilherme Alves, pela parceria nos experimentos e amizade.

Aos funcionários da FCAV/UNESP, em especial ao Juninho e ao Uanderson, pela manutenção da estrutura do setor para condução do experimento.

Ao Prof. Dr. Luis Tedeschi, pelas inúmeras oportunidades de crescimento pessoal e profissional, especialmente por me acolher na Texas A&M University. Aos membros do grupo de pesquisa do Dr. Tedeschi e amigos, Fernando Dias, Egleu Mendes, Karun Kaniyamattam, Maddy Rivera, Jordan Adams, Genevieve D'Souza.

A todos os meus amigos que estiveram ao meu lado durante meu doutorado sanduíche no Texas, me acolheram e deram suporte, em especial à minha melhor amiga Tamara Qualharello, ao Gabriel Danelon, Mariana Dairel, Nicole Tedeschi, Eduardo Colombo, Márcia Fernandes e família, Cláudia Fioranelli e filhos, Giovanni e Marcela.

À empresa Premix, pelo suporte e auxílio no desenvolvimento da análise *in vitro*, especialmente aos pesquisadores Luís Eduardo Ferreira, André D'Aurea e Lauriston Fernandes e à estagiária que me auxiliou no laboratório, Crisane Holanda.

À empresa Nutron/Cargill, pela confiança em meu trabalho, especialmente ao meu gestor Pedro Veiga, minha madrinha Laura Prados, e assistentes de pesquisa Kleber Ramos e Letícia Cassano.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, câmpus de Jaboticabal, especialmente ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade de realização do curso.

À FAPESP pela concessão das bolsas de estudos (processos nº 2019/25997-4; 2021/06521-9) e recursos necessários para a condução do experimento e realização do estágio sanduíche na Texas A&M University

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais	1
1. Introdução.....	1
2. Revisão de literatura.....	3
Gênero <i>Brachiaria</i>	3
Manejo de pastejo	5
Altura de pastejo.....	6
Adubação nitrogenada.....	8
Fase de recria de bovinos de corte	9
Cruzamento industrial de bovinos de corte.....	10
Suplementação da dieta	12
Suplementação nas águas	14
Suplementação energética.....	17
Polpa cítrica.....	19
Desempenho animal em pastagens	23
Desempenho animal x consumo e digestibilidade da forragem.....	23
Desempenho animal x suplementação.....	24
Síntese de proteína microbiana.....	26
Fatores que afetam a síntese de proteína microbiana	29
Efeito da sincronização das funções do rúmen e reciclagem de proteína microbiana.....	30
Fonte energética.....	32
Uso de taninos condensados na mitigação de metano entérico.....	33
3. Referências bibliográficas.....	34
CAPÍTULO 2 - Effect of diurnal feeding times and sources of energy supplementation to optimize rearing of F1 Angus x Nellore young bulls	53
Abstract.....	53
Introduction	54
Material and Methods.....	56
Experimental design	57
Animals and Pasture management.....	57
Forage Mass and Morphological Composition of Pasture	58
Chemical composition of the forage	59
Nutrients intake and Digestibility.....	60
Animal urine production and Nitrogen Balance.....	62
Ruminal and blood parameters.....	63
Total gas production and in vitro dry matter degradability	63
Animal performance	64
Statistical analysis	66
Results	66
Total intake and digestibility of nutrients	66
Efficiency of N use and microbial protein synthesis	67
Ruminal parameters	67
Dry matter in vitro degradability	68
Animal performance and gain per area.....	68
Discussion.....	69

Animal performance and gain per area.....	69
Total intake and digestibility of nutrients	70
Efficiency of N use and microbial protein synthesis	71
Ruminal parameters	72
Dry matter in vitro degradability	74
References.....	76
CAPÍTULO 3 - Meta-analysis of the relationship between dietary condensed tannins and methane emissions by cattle	94
Highlights	94
Abstract.....	94
1. Introduction.....	96
2. Material and Methods	97
2.1. Database development.....	97
2.2. Calculations	98
2.3. Statistical analyses	98
3. Results.....	99
3.1. Condensed tannin versus CH ₄ emissions.....	99
3.2. Condensed tannins versus nutrient digestibility	99
3.3. Condensed tannins versus ruminal parameters.....	100
3.4. CH ₄ emissions versus condensed tannins and ruminal parameters	100
3.5. CH ₄ emissions versus dry matter intake	100
3.6. CH ₄ emissions versus condensed tannins and diet components	100
4. Discussion	101
4.1. Condensed tannin versus CH ₄ emissions	101
4.2. Condensed tannins versus nutrient digestibility	103
4.3. Condensed tannins versus ruminal parameters.....	104
4.4. CH ₄ emissions versus condensed tannins x ruminal parameters.....	105
4.5. CH ₄ emissions versus dry matter intake	106
4.6. CH ₄ emissions versus condensed tannins and diet components	106
5. Conclusions	108
References.....	109



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



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **"Efeito dos horários e fontes de suplementação energética para otimizar a recria de tourinhos F1 Angus-Nelore"**, protocolo nº 015234/19, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis, 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 julho 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 18 de dezembro de 2019.

Vigência do Projeto	20/12/2019 a 15/10/2020
Espécie / Linhagem	F1 Angus x Nelore
Nº de animais	70
Peso / Idade	280 Kg e 12 meses de idade
Sexo	Machos
Origem	Produtor da região de Fernandópolis

Jaboticabal, 18 de dezembro de 2019.

Fabiana Pilarski
Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

SUPLEMENTAÇÃO ENERGÉTICA E USO DE TANINOS CONDENSADOS COMO ESTRATÉGIAS PARA INTENSIFICAÇÃO DA PECUÁRIA DE CORTE

RESUMO - A suplementação energética com carboidratos altamente fermentáveis pode ser uma estratégia para maximizar a eficiência do uso de nitrogênio (EUN) de forragens de alto valor nutricional. O estudo teve como objetivo investigar os efeitos independentes ou associados de dois horários de suplementação diurnos (9h ou 17h) com duas fontes de suplementação energética (milho ou polpa cítrica) na recria de tourinhos F1 Angus x Nelore em pastos de *Urochloa brizantha* cv. Marandu e suas implicações sobre a composição química da forragem, consumo e digestibilidade de nutrientes, EUN, síntese de proteína microbiana (SPM), desempenho animal e ganho por área. Os tratamentos consistiram de suplementação energética a 0,3% PC com milho ou polpa cítrica fornecidos às 9h ou 17h. Verificou-se que a suplementação a 0,3% PC com milho ou polpa cítrica às 9h ou 17h pode atingir ganhos de até 1,06 kg/d de tourinhos recriados em pastos de capim Marandu adubados com 180 kg de N/ha/ ano e manejados a 25 cm de altura. Não houve efeitos na SPM ou na sua eficiência. A polpa cítrica pode ser utilizada como fonte energética alternativa ao milho, apresentando o mesmo potencial para GMD, EUN e SPM em pastos tropicais com alta proporção de proteína solúvel e carboidratos estruturais e não fibrosos com alta digestibilidade da matéria seca. No contexto de intensificação da pecuária, os taninos condensados (TC) têm sido muito utilizados na nutrição animal, por promover melhor utilização da proteína da dieta e reduzir as emissões de metano (CH₄) entérico pela alteração da cinética de fermentação ruminal. Uma metanálise foi conduzida com o objetivo de desenvolver equações de regressão com base em componentes significativos da dieta e suas interações para mitigação específica de CH₄ entérico ao associar corretamente o nível de inclusão de CT e a composição da dieta. Verificou-se que o aumento do nível dietético de CT reduz as emissões de CH₄ nos métodos *in vitro* e *in vivo*. Nossa metanálise identificou componentes da dieta que afetam significativamente as emissões entéricas de CH₄ por bovinos e desenvolveu um modelo de predição baseado nesses componentes, incluindo matéria orgânica, proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro e extrato etéreo. No método *in vivo* de mensuração de CH₄ mostrou que a interação entre o nível de CT e PB na dieta afeta as emissões de CH₄.

Palavras-chave: bovinos de corte, horários de suplementação, metano entérico, milho, polpa cítrica, taninos condensados.

ENERGY SUPPLEMENTATION AND THE USE OF CONDENSED TANNINS AS STRATEGIES FOR BEEF CATTLE INTENSIFICATION

ABSTRACT - Energy supplementation with highly fermentable carbohydrates can be a strategy to maximize the efficiency of nitrogen use (ENU) from high-nutritional value forages. The study aimed to investigate the independent or associated effects of two diurnal feeding times (0900 or 1700 h) with two sources of energy supplementation (corn or citrus pulp) in the growing of F1 Angus x Nellore young bulls on palisade grass pastures and their implications on the forage chemical composition, nutrient intake and digestibility, ENU, microbial protein synthesis (MCP), animal performance and gain per area. The treatments consisted of energy supplementation at 0.3% BW with corn or citrus pulp fed at 0900 or 1700 h. Supplementation at 0.3% of BW with corn or citrus pulp at 0900 h or 1700 h can reach up to 1.06 kg/d of young bulls reared on palisade grass pastures fertilized with 180 kg nitrogen/ha/year and managed at 25 cm of height. There were no effects on MCP or its efficiency. The citrus pulp can be used as an alternative energy source to corn because it has the same potential for animal performance, ENU and MCP in tropical pastures with a high proportion of soluble protein and structural and non-fibrous carbohydrates with high dry matter digestibility. In the context of beef cattle intensification, condensed tannins (CT) have been widely used in ruminant nutrition, since it promotes better use of dietary protein and reduce enteric methane (CH₄) emissions by altering rumen fermentation kinetics. The study aimed to develop regression equations based on the significant components and their interactions to target a specific ruminal CH₄ mitigation when correctly associating CT inclusion level and diet composition. Across many experiments, increasing the level of dietary CT led to a decrease in ruminal CH₄ concentrations for in vitro and in vivo fermentation conditions. Our meta-analysis identified diet components that significantly affect enteric CH₄ emissions by cattle and developed a prediction model based on these components, including organic matter, crude protein (CP), neutral detergent fiber and ether extract. The in vivo CH₄ method showed that an interaction between CT and CP diet content affects CH₄ emissions.

Keywords: beef cattle, condensed tannins, corn, citrus pulp, enteric methane, supplementation time.

LISTA DE FIGURAS

Figure 1. Ruminal kinetics of forage, corn, citrus pulp and forage associated with energy supplements sources	92
Figure 2. Dry matter in vitro degradability and total gas production of the corn, citrus pulp and its association with forage	92
Figure 3. Variation of N-NH ₃ (g/L) throughout the day of F1 Angus x Nellore young bulls reared in palisade grass pastures and supplemented at 0.3% BW with corn or citrus pulp at 0900 h or 1700 h. (Figure not published in the article).	93
Figure 4. Variation of ruminal pH throughout the day of F1 Angus x Nellore young bulls reared in palisade grass pastures and supplemented at 0.3% BW with corn or citrus pulp at 0900 h or 1700 h. (Figure not published in the article).	93

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Table 1. Composition of supplements provided to F1 Angus x Nellore young bull during rearing phase	85
Table 2. Forage mass, forage and leaf allowances, stocking rate and morphological composition of palisade grass pastures fertilized with 180 kg N/ha/year during rearing phase of F1 Angus x Nellore young bulls, supplemented with 0.3% BW with corn or citrus pulp at 0900 h or 1700 h	86
Table 3. Chemical composition, carbohydrate and protein fractionations of palisade grass pastures fertilized with 180 kg N/ha/year during rearing phase of F1 Angus x Nellore young bulls, supplemented with 0.3% BW with corn or citrus pulp at 0900 h or 1700 h	87
Table 4. Total intake and digestibility of nutrients (forage + supplement) in cannulated F1 Angus x Nellore young bulls grazing palisade grass pastures and supplemented with 0.3% BW with corn or citrus pulp at 0900 h or 1700 h	88
Table 5. Purine derivatives, plasma urea nitrogen and efficiency of nitrogen use of F1 Angus x Nellore young bulls reared in palisade grass pastures and supplemented with 0.3% BW with corn or citrus pulp at 0900 h or 1700 h	89
Table 6. Ruminal parameters of cannulated F1 Angus x Nellore young bulls reared in palisade grass pastures and supplemented with 0.3% BW with corn or citrus pulp, at 0900 h or 1700 h	90
Table 8. Performance and gain per area of F1 Angus x Nellore young bulls reared in palisade grass pastures and supplemented with 0.3% BW with corn or citrus pulp, at 0900 h or 1700 h	91

CAPÍTULO 3

Table 1. Summary of studies included in the meta-analysis of condensed tannins and methane emissions	121
Table 2. Regression equations of CH ₄ emissions (L/kg DM) of cattle supplemented with condensed tannins	123
Table 3. Regression equations of nutrient digestibility of cattle supplemented with condensed tannins	124
Table 4. Regression equations of ruminal parameters of cattle supplemented with condensed tannins	125
Table 5. Regression equations of CH ₄ emission and its relationship with ruminal parameters of cattle supplemented with condensed tannins	126
Table 6. Regression equations of CH ₄ emissions and dry matter intake of cattle supplemented with condensed tannins	127
Table 7. Regression equations of CH ₄ emissions and diet components provided to cattle supplemented with condensed tannins	128
Table 8. Regression equations of CH ₄ emissions and the relation of diet components and condensed tannins	130

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais¹

¹ Este capítulo corresponde à revisão de literatura parcialmente publicada na revista *Animal Feed Science and Nutrition - Health and Environment*.

BERÇA, A.S.; ROMANZINI, E.P.; CARDOSO, A.S.; FERREIRA, L.E.; D'AUREA, A.P.; FERNANDES, L.B.; REIS, R.A. *Advances in Pasture Management and Animal Nutrition to Optimize Beef Cattle Production in Grazing Systems*. *Animal Feed Science and Nutrition - Health and Environment*. 1ed.: IntechOpen, 2021, v. 1, p. 1-24. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.99687>

1. INTRODUÇÃO

A grande extensão territorial e o clima tropical favorável ao crescimento de gramíneas tropicais tornam as pastagens a base na alimentação dos rebanhos brasileiros, sendo a forma mais prática e econômica para a alimentação de bovinos no Brasil (McMANUS et al., 2016), responsável pela produção de 84,6% de todo o rebanho nacional, que alcança quase 196,4 milhões de cabeças (ABIEC, 2022).

A globalização da economia induz a agropecuária a se tornar mais cada vez mais eficiente e competitiva, portanto, falhas no manejo da pastagem podem ser decisivas no sucesso ou insucesso da pecuária de corte (DUBEUX et al., 2017). Nesse sentido, o grande desafio dos sistemas de produção de bovinos de corte em pastagens consiste na utilização de práticas capazes de elevar a produtividade e a qualidade da carne de forma sustentável e com baixo impacto ambiental (CARDOSO et al., 2016; CARDOSO et al., 2020). Para isso, potencializar o desempenho dos animais e otimizar a utilização dos recursos forrageiros basais consiste no principal objetivo de estratégias de manejo a serem adotadas (DELEVATTI et al., 2019a).

No Brasil Central, as forrageiras tropicais apresentam como característica típica a estacionalidade de produção, concentrando seu crescimento entre 70 e 80% no período das águas e 20 a 30% no período da seca (De JESUS et al., 2021). Os efeitos dessa sazonalidade na pecuária de corte são evidentes através de drásticas variações na composição química e estrutural do dossel forrageiro, que refletem diretamente no ganho de peso e, conseqüentemente, geram atraso da idade de abate dos animais (REIS et al., 2012). A estação chuvosa, nesse cenário, apresenta vantagens na produção de ruminantes por possuir condições edafoclimáticas favoráveis para produção de massa foliar verde com maiores teores de proteína bruta (PB) e de nutrientes digestíveis totais (NDT), quando comparada à estação seca, além de ser vista como a época de se explorar o máximo do desempenho animal e por área (POPPI et al., 2018).

Forrageiras tropicais de alta qualidade podem fornecer parcialmente os nutrientes necessários para atender às exigências dos animais em pastejo, incluindo energia, proteína, minerais e vitaminas. Ainda, as pastagens raramente estão em estado de equilíbrio entre exigências dos animais e os nutrientes necessários para obter ganhos de peso elevados, em função da sazonalidade quantitativa e qualitativa inerente ao sistema pastagem, interferindo na expressão do potencial genético dos animais de corte criados no Brasil (VALADARES FILHO et al., 2019). Nesse sentido, as estratégias de manejo adotadas pelo manejador podem proporcionar diferenças na magnitude das respostas no desempenho animal e por área de pastagem explorada (REIS et al., 2009).

A intensificação do sistema de produção requer, além do emprego de técnicas de manejo de pastagem, a adoção de estratégias nutricionais, como a suplementação da dieta de bovinos em pastejo, bem como a utilização do potencial genético dos animais, através de seleção e cruzamentos. Tais estratégias devem ser consolidadas de modo a garantir rentabilidade do sistema de produção, sustentabilidade do ecossistema pastagem e produção de carne de qualidade para o mercado consumidor (CARDOSO et al., 2016; CARDOSO et al., 2020). Diante de tais condições, torna-se cada vez maior a busca por alternativas aos aditivos químicos que reduzam a contribuição negativa da pecuária para o aquecimento global e, ao mesmo tempo, que aumentem a eficiência zootécnica e produtiva (PEYRALD, 2017). Neste contexto é que a utilização dos aditivos orgânicos tem se firmado, dentre esses componentes estão os taninos condensados, as saponinas e os óleos essenciais. Estes compostos são oriundos de plantas, geralmente extratos delas, e tem a capacidade de manipular a fermentação ruminal e o metabolismo animal, de modo a aumentar o desempenho e promover efeitos benéficos ao ambiente (HART et al., 2008).

Portanto, este capítulo visou abordar aspectos relacionados à produção de bovinos de corte em pastagens tropicais, considerando o manejo do pastejo, o uso estratégico da suplementação da dieta dos animais em pastejo, caracterizando a inclusão de alimentos não consumidos por humanos na composição dos suplementos e seus resultados, além dos fatores que afetam o desempenho animal e a síntese de proteína microbiana.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Gênero Brachiaria

Nos últimos 30 anos, as gramíneas forrageiras do gênero *Urochloa*, tradicionalmente denominado *Brachiaria*, alcançaram grande importância econômica no Brasil (TORRES GONZÁLES e MORTON, 2005). Segundo Machado et al. (2010), espécies do gênero permitiram a viabilização da atividade pecuária em solos fracos e ácidos dos Cerrados, criando novos polos de desenvolvimento e colonização no Brasil Central, com aumento da produção por animal e por área, quando comparadas às espécies nativas das décadas de 70 e 80. Ademais, a produção de sementes superior à 50 mil toneladas por ano tornou o país o maior exportador de sementes para a América Latina, alcançando faturamento de 600 milhões de dólares (MACHADO et al., 2010).

As plantas do gênero *Brachiaria* são caracterizadas pela sua grande flexibilidade de uso e manejo, sendo tolerantes a uma série de limitações e/ou condições restritivas de utilização para grande número de espécies forrageiras (FONSECA et al., 2006). Como propriedades típicas, essas gramíneas se adaptam às mais variadas condições de solo e clima, gerando produções satisfatórias de forragem em solos com baixa e/ou média fertilidade (MACHADO et al., 2010).

A introdução das espécies de *Brachiaria* no Brasil se deu na década de 60 através da *B. decumbens* cv. Basilisk (nome popular: braquiarinha), oriunda da África, e desde então as pesquisas se intensificaram e seu uso se expandiu nos trópicos, tornando-se a principal espécie forrageira do país. Durante décadas de monocultivo da braquiarinha, alguns problemas começaram a surgir, a exemplo a infestação por cigarrinhas-das-pastagens; incidência de fotossensibilização principalmente em bezerros desmamados, e a degradação das pastagens em função do manejo inadequado, intensificando a demanda por novas variedades melhoradas e adaptadas (MACHADO et al., 2010).

Na tentativa de alternativas para esses problemas, o uso da *B. brizantha* começou a ganhar espaço nas áreas cultivadas. Segundo NUNES et al. (1985), a espécie *B. brizantha* é originária da África tropical e encontrada em Madagascar, Sri Lanka, Austrália, Suriname e Brasil. Apresenta como características o hábito de crescimento cespitoso; colmos iniciais prostrados, mas com produção de perfilhos eretos; bainhas pilosas; lâminas foliares linear-lanceoladas, pilosas na face ventral e

glabras na fase dorsal; inflorescência na forma de espiguetas e colmos floríferos eretos, frequentemente com perfilhamento nos nós superiores e proliferação de inflorescências sob regime de corte ou pastejo. Além disso, os principais atributos da *B. brizantha* são a alta resposta à aplicação de fertilizantes, capacidade de cobertura do solo e alta produção de raízes e sementes. Por outro lado, possui baixa adaptação a solos mal drenados, moderada resistência à seca e necessidade de solos medianamente férteis para persistência à longo prazo (VALLE et al., 2010).

Dentre os cultivares de *B. brizantha*, o capim Marandu é o mais utilizado para o estabelecimento de pastagens e sobre o qual se têm uma maior quantidade de informações (VALLE et al., 2010). A *Brachiaria brizantha* [Hochst] Stapf. cv. Marandu foi liberada em 1984 pela Embrapa Gado de Corte em conjunto com a Embrapa Cerrados, substituindo gradualmente as pastagens de *B. decumbens* (NUNES et al., 1985). Estima-se que mais de 50% das áreas de pastagens cultivadas estejam ocupadas com esta gramínea na região Centro-Oeste e 65% na região Norte do país (MEDICA et al., 2017)

De acordo com Pires (2006), o capim Marandu, é originário da região de Zimbábue, na África do Sul e apresenta como características interessantes a alta produção de MS e de sementes, médio a alto valor nutritivo, resposta rápida à adubação, capacidade de rebrota, tolerância à seca, persistência, alta aceitabilidade pelos animais e de média a alta resistência à cigarrinha das pastagens. A produção média anual varia de 12 a 20 t MS/ha, com teor de PB entre 7 e 15% e digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS) entre 65 e 72% (COSTA et al., 2001). No entanto, geralmente apresenta baixa adaptação a solos mal drenados e média resistência às geadas (VALLE et al., 2000).

O capim Marandu consiste em uma planta cespitosa, muito robusta, podendo atingir de 1,5 a 2,5 m de altura. Apresenta colmos iniciais prostrados e produz perfilhos predominantemente eretos; possui rizomas muito curtos e encurvados, bainhas pilosas com cílios nas margens (NUNES et al., 1985). Segundo Barnabé et al. (2007), a espécie consiste em uma alternativa interessante de forragem de qualidade, desde que se supra a exigência nutricional da planta, com adubação e manejo adequados. Caso contrário, pode haver perda do valor nutritivo rapidamente, principalmente após a emissão do colmo floral.

Em compilação de 348 trabalhos publicados na área de forragicultura de três periódicos brasileiros, Fonseca et al. (2006) reportaram que o capim Marandu foi uma

das forrageiras mais estudadas no país em virtude da sua expressividade nas áreas de pastagens cultivadas. No entanto, ainda existe a necessidade de informações sobre as interações existentes entre o manejo do pastejo e as estratégias de suplementação com vistas a potencializar o desempenho animal.

Manejo do pastejo

O desempenho animal em pastagens é determinado principalmente pela qualidade da forragem, que é função do consumo de matéria seca (MS) e valor nutritivo da forragem (REIS et al., 2012). Por sua vez, o valor nutritivo é determinado pela composição química e pelos nutrientes diretamente responsáveis pela digestibilidade da MS, teores de PB e de fibra insolúvel em detergente ácido (FDA) (REIS et al., 2012). Nesse sentido, o manejo correto dos pastos afeta tanto a composição bromatológica quanto a estrutura do pasto, além de fatores como massa de forragem, oferta de folhas, colmo e material morto, determinantes no comportamento ingestivo do animal e consequentemente, no consumo de nutrientes (RUGGIERI et al., 2020).

No período das águas, o manejo deve ser feito através de estratégias que garantam a maior duração no suprimento de pasto de qualidade e/ou a melhoria do valor nutritivo da forragem, visando maior produtividade do sistema (POPPI e MCLENNAN, 1995). Nesse sentido, o manejo do pasto deve priorizar o ajuste na intensidade de pastejo para obter altos rendimentos por animal e por área, considerando os princípios morfofisiológicos que regem o crescimento da planta forrageira e seus limites biológicos, de modo a permitir persistência do pasto e evitar sua degradação (PEYRALD, 2017). Qualquer critério de manejo a ser adotado, portanto, deve considerar o ajuste da massa de forragem e da taxa de lotação com o intuito de controlar simultaneamente a qualidade e a quantidade de forragem disponível e manter a sustentabilidade do sistema (REIS et al., 2009).

De modo geral, o manejo de pastagens envolve um conjunto de práticas destinadas a alterar a morfologia ou retardar a maturidade da planta, de modo a aumentar o nível de nutrientes digestíveis na dieta para bovinos e garantir desempenho adequado (PAULINO et al., 2004). Ainda, Sollenberger et al. (2020) apontam que o manejo do pastejo deve permitir o balanço entre o crescimento da

planta, o seu consumo e a produção animal, de modo a manter o sistema de produção estável.

De acordo com Pereira et al. (2017), o controle da desfolhação do pasto é determinante da sustentabilidade do sistema, por ser um evento de caráter antagônico, isto é, a planta utiliza as folhas para captar luz e realizar a fotossíntese, produzindo carboidratos que permitem a manutenção da vida e do desenvolvimento. Por outro lado, a folha é o componente morfológico de maior valor nutritivo que compõe a maior parte da dieta de animais em pastejo (RUGGIERI et al., 2020). Neste sentido, torna-se necessária a adoção de técnicas de manejo que priorizem a planta forrageira e o animal em pastejo, permitindo alta produtividade de forragem aliada a um elevado desempenho animal (CARDOSO et al., 2020).

Altura de pastejo

O manejo das pastagens com base no ajuste da intensidade de pastejo pode ser feito seguindo diversos critérios, tais como pressão de pastejo, oferta de forragem, massa de forragem residual, índice de área foliar (IAF) residual, altura, entre outros (REIS et al., 2009). A adoção da altura como critério do manejo permite o controle da massa de forragem e taxa de lotação, sendo capaz de relacionar o crescimento do pasto com sua utilização e, conseqüentemente, com a estrutura do dossel e as respostas em consumo e desempenho animal (CASAGRANDE et al., 2011). Além disso, a altura consiste em um indicador funcional e prático de campo, podendo ser correlacionada com os outros critérios de manejo, como oferta de forragem e interceptação luminosa (IL) (BALDISSERA et al., 2016). Ainda, a altura de pastejo afeta diretamente o comportamento ingestivo de animais em pastejo (CARDOSO et al., 2020).

De acordo com Reis et al. (2012), o manejo do pastejo deve adequar a frequência e intensidade de desfolhação, de modo que o animal possa colher forragem com idade fisiológica adequada, o que afeta diretamente a natureza e a concentração dos carboidratos estruturais da parede celular e compostos nitrogenados, principais determinantes da qualidade da forragem. Assim, os autores reportam que pastos mantidos sob lotação contínua e eficientemente manejados propiciam consumo contínuo folhas jovens pelos animais e, conseqüentemente, de

maior digestibilidade da forragem quando comparados ao sistema de lotação intermitente.

O manejo dos pastos sob diferentes intensidades de pastejo promovem diferentes respostas no acúmulo de massa e valor nutritivo da forragem. Estudos conduzidos na FCAV/UNESP câmpus de Jaboticabal geraram dados consistentes sobre os efeitos de diferentes alturas de manejo de pasto tropical na estação chuvosa (AZENHA, 2010; CASAGRANDE et al., 2011; BARBERO et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016; VIEIRA et al., 2017; KOSCHECK et al., 2020; BARBERO et al., 2020). Os autores citados avaliaram pastos de capim Marandu em sistema de pastejo de lotação contínua e carga variável, em três alturas: 15, 25 e 35 cm. À medida que aumentou a altura de pastejo, houve redução no teor de PB, aumento no teor de fibra, maior taxa de senescência e maior taxa de alongamento de folhas, sendo estes dois últimos relacionados ao maior IAF, que intercepta maior quantidade de radiação solar. Por outro lado, dosséis mantidos sob menor altura apresentaram o crescimento e a senescência reduzidos, menor acúmulo de forragem, além de restrição na oferta de material verde, o que limitou o consumo e o desempenho animal. Em suma, os autores concluíram que pastos de capim Marandu manejados sob lotação contínua, no período das águas, devem ser manejados a 25 cm de altura, de modo a maximizar o consumo de forragem e ganho de peso individual na fase de recria, sem que haja declínio acentuado no ganho de peso por área.

Nessa sequência de trabalhos, os pastos de capim Marandu manejados sob lotação contínua a 25 cm de altura corresponderam a 95% de IL e, segundo Delevatti et al. (2019b), esse manejo resulta em pastos com maior proporção de folhas, maior fração proteica, menor proporção de material morto e de fibra insolúvel em detergente neutro (FDN).

Em pastos capim Marandu submetidos a pastejo rotativo, valores de 95% de IL durante a rebrotação também foram obtidos com uma altura média de entrada no pasto ao redor de 25 cm (TRINDADE et al., 2007; PEDREIRA et al., 2007). Segundo Pedreira et al. (2007), a estratégia de manejo de entrada dos animais à 95% de IL reduz a quantidade de material autossombreado no dossel e, portanto, reduz a morte de tecidos. Além disso, em sistema rotativo, a altura do resíduo pós-pastejo interfere no consumo de pasto pelo animal em função das alterações na estrutura do dossel e do estrato explorado pelos animais durante o processo de rebaixamento dos pastos (TRINDADE et al., 2007).

Adubação nitrogenada

Segundo Reis et al. (2009), o crescimento, desenvolvimento e a composição química das forragens são fatores determinantes no desempenho animal, e por sua vez são afetados por aspectos fisiológicos inerentes à planta e condições ambientais. Deste modo, o nitrogênio (N) consiste no elemento mais limitante para o desenvolvimento de gramíneas forrageiras, em função da quantidade de nutriente extraída pela planta e pelo baixo efeito residual do N no solo após a sua aplicação, devido às perdas por volatilização, lixiviação e imobilização por microrganismos (BODDEY et al., 2004).

Nesse cenário, o uso da adubação em pastagens tem sido intensificado nos últimos anos, visando o aumento do valor nutritivo da forragem e da taxa de lotação que, conseqüentemente, aumenta a produção por unidade de área (DELEVATTI et al., 2019b). A taxa de lotação da pastagem, por sua vez, depende diretamente da produtividade da planta forrageira, a qual é afetada por diversos fatores como a precipitação, temperatura, luminosidade, fertilidade do solo e adubação, principalmente a nitrogenada (SOLLENBERGER et al., 2014).

De acordo com Rezende et al. (2011), o efeito da adubação nitrogenada sobre a produtividade está relacionado com o perfilhamento inicial após corte, por promover rápida expansão das folhas, repondo rapidamente os tecidos fotossintéticos e por elevar a formação de perfilhos, responsáveis pela maior produção de MS. Além disso, a adubação nitrogenada aumenta a concentração de PB, diminui o N insolúvel em detergente neutro e possibilita maior eficiência na atividade celulolítica da microbiota ruminal, fatores estes que otimizam o desempenho animal (DELEVATTI et al., 2019a). A eficiência de utilização do N pelas plantas forrageiras, no entanto, é bastante divergente, variando de 5 a 89,2 kg de MS/kg de N aplicado (BALSALOBRE et al., 2003).

Segundo Borges et al. (2019), gramíneas tropicais respondem a doses elevadas de fertilizante nitrogenado, desde que o solo tenha fertilidade adequada para os demais minerais. A combinação da adubação nitrogenada e a variação na frequência de pastejo também afetam a produção e qualidade da pastagem, bem como a eficiência de colheita da forragem pelos animais (DELEVATTI et al., 2019b). Nesse sentido, doses maiores de N devem exigir intervalos menores entre pastejos, de modo a garantir alta produção de forragem com adequado valor nutritivo e alta eficiência de pastejo (DELEVATTI et al., 2019b).

A degradabilidade ruminal da PB das plantas forrageiras tropicais é naturalmente alta, e aumenta com o aumento da dose de N aplicado na pastagem (DELEVATTI et al., 2019a). Em situações de manejo de pastos de gramíneas tropicais nas quais se observam a alta degradabilidade dos compostos nitrogenados associada ao alto conteúdo de carboidratos estruturais de lenta degradação da forragem, a falta de balanço entre N e esqueletos de carbono oriundos da degradação dos carboidratos no rúmen, compromete a eficiência de uso de nitrogênio (EUN) e a síntese de proteína microbiana (DETMANN et al., 2014). Esta condição, no entanto, gera perdas excessivas de compostos nitrogenados no ambiente ruminal na forma de amônia (NH_3) pela urina, gerando déficit proteico em relação às exigências para ganhos elevados (POPPI et al., 2018), que, além de resultar em perdas econômicas, pode ser prejudicial ao meio ambiente através das perdas de N na forma de NH_3 volatilizada, emissão de óxido nitroso e lixiviação de nitrato (ABOAGYE et al., 2018; CARDOSO et al., 2016).

Em suma, práticas de manejo das pastagens durante a estação chuvosa, incluindo a adubação de manutenção, o ajuste na lotação em função da quantidade de forragem disponível, propiciam a persistência do pasto, o que seguramente dilui os custos de produção, em decorrência do prolongado período de utilização do pasto (REIS et al., 2012).

Fase de recria de bovinos de corte

Na época chuvosa, de condições favoráveis à produção forrageira, a intensificação do sistema durante a recria dos bovinos é uma alternativa para elevar a produtividade da propriedade (HOFFMANN et al., 2021a).

A recria pode ser definida como a fase compreendida entre a desmama até o momento em que o animal é encaminhado para reprodução, no caso de fêmeas, ou terminação, no caso de machos ou de fêmeas de descarte destinadas à produção de carne (MEDEIROS et al., 2010). Trata-se de uma fase de ganho eficiente, uma vez que os bovinos apresentam menor exigência de manutenção, alto potencial de crescimento muscular, baixa deposição de gordura e maior conversão alimentar, o que possibilita aumento na produtividade de arrobas por hectare (MEDEIROS et al., 2010). No entanto, a recria reflete diretamente na fase de terminação, sendo que uma deficiência nutricional nesse período pode acarretar déficit econômico no sistema como um todo (HOFFMANN et al., 2021b).

No Brasil, o sistema de produção de carne se baseia na recria de animais exclusivamente à pasto, com o mínimo ou nenhum emprego de tecnologia, ou seja, animais consumindo somente pasto dependente da estacionalidade da produção forrageira (BRITO et al., 2008). Nesse cenário, é comum observar animais perdendo peso ao entrar na época seca do ano, que, além de tornar longo o período de recria, podendo passar de três anos, resulta em baixos índices produtivos e torna oneroso o custo de produção do sistema (ROMANZINI et al., 2020).

Em sistemas intensivos de produção de carne, no entanto, torna-se essencial proporcionar condições adequadas para o desenvolvimento dos animais durante todo o ano, de modo a atingir mais precocemente o peso de abate e/ou acabamento de carcaça dentro dos padrões exigidos pelo mercado. Para tanto, é necessário manter o suprimento de alimento em equilíbrio com as exigências nutricionais durante todo o ciclo de vida dos animais (HOFFMANN et al., 2021b). Nesse contexto, a suplementação de bovinos de corte em pastejo consiste em uma das principais estratégias para intensificar os sistemas de produção, fundamental para a competitividade e sustentabilidade do setor pecuário (DELEVATTI et al., 2019).

Cruzamento industrial de bovinos de corte

Frente às pressões impostas nas últimas décadas pela abertura de mercados, competição exercida por outros tipos de carnes, concorrência das atividades agrícolas e aumento da população mundial, tem-se exigido maior eficiência do setor de produção de carne do Brasil (ALENCAR, 2004). Nesse sentido, além do aprimoramento no manejo de pastagem e nutricional, o uso de genética de qualidade dos bovinos contribui significativamente para o desenvolvimento da pecuária (DALLANTONIA, 2020).

Nos sistemas de produção de bovinos de corte no Brasil, o rebanho é em sua maioria formado por gado puro ou mestiço de Zebu (*Bos tauros indicus*), em função principalmente de sua adaptabilidade às regiões tropicais. No entanto, o gado zebuíno é menos produtivo do que o gado taurino quando em condições de clima ameno, nutrição e sanidade adequadas. Por outro lado, sob calor intenso, presença de parasitas e nutrição deficiente, a utilização de raças europeias não é recomendável (ALENCAR, 2004).

Nesse contexto, a seleção de gado existente para características de valor econômico consiste em uma alternativa para contornar os problemas relacionados à

adaptabilidade dos animais europeus (PEREIRA et al., 2015). Essa estratégia já está sendo utilizada no Brasil, no entanto, os resultados são obtidos à longo prazo e ainda há a necessidade de determinar critérios de seleção mais adequados para características como qualidade de carne, temperamento e eficiência produtiva (JOSAHKIAN et al., 2015).

O cruzamento industrial é o mais utilizado na pecuária de corte em todo o país, cujo objetivo é melhorar o desempenho dos zebuínos, sendo esses adaptados às nossas condições (PRADO et al., 2008). Dessa forma, a geração de animais a partir do cruzamento entre raças das espécies *Bos taurus* e *Bos indicus* resulta em animais com elevada produtividade em ambientes tropicais, em função da heterose e da complementariedade entre raças, principalmente na primeira geração (F1), permitindo aumentar a eficiência do sistema de produção de carne mais rapidamente (MOKOLOBATE et al., 2014; PEREIRA et al., 2015).

Segundo Eler (2017), conhecer as características ideais para melhoria da progênie de cada raça é ideal para formar o cruzamento industrial a ser utilizado no sistema. Assim, é possível que as características de baixa herdabilidade e que ocorram em outras raças sejam expressas nos bezerros provenientes do cruzamento (ROSA et al., 2013).

Diversos estudos mostraram que os animais de cruzamento são superiores aos puro-sangue para uma ou mais características (SANTIAGO, 1984; SANTOS, 1999; RESTLE et al., 2004). Ainda, Euclides et al. (2018) reportam que a heterose consiste no quanto a geração F1 é superior em relação às médias dos pais, portanto, quanto maior for a distância genética entre duas raças, maior será a heterose e menor a herdabilidade. Nesse contexto, parâmetros como adaptabilidade, fertilidade e demais fatores relacionados à reprodução possuem altos valores de heterose e baixa de herdabilidade. Em contrapartida, crescimento pós-desmama, conversão alimentar e composição de carcaça apresentam baixo valor de heterose e alta herdabilidade (ARTMANN et al., 2015).

A busca de cruzamentos que proporcionem maior capacidade de produção de carne, redução da idade de abate, aumento do ganho de peso e produção de carcaças de maior musculosidade e rendimento deve ser associada à seleção de animais mais adaptados ao ambiente no qual serão criados (PEREIRA et al., 2015; FAÇANHA et al., 2015).

Nesse cenário, a raça Nelore mostra-se ideal para ser utilizada como base materna, por apresentar características produtivas e reprodutivas adequadas, além de resistência e adaptabilidade às condições tropicais. Por outro lado, utilizar a base paterna com Aberdeen Angus é interessante, em função do ganho de peso elevado, precocidade sexual e acabamento de carcaça, que podem aumentar a eficiência do sistema (GUERRA et al., 2016; AMARAL et al., 2018). Dessa forma, a utilização de animais F1 Angus-Nelore consiste em uma estratégia eficiente para elevar os índices zootécnicos e produzir carne de melhor qualidade em sistemas de bovinos de corte.

Ademais, estudos mostram que os bovinos oriundos de sistemas à pasto tendem a apresentar carne com menor conteúdo de gordura quando comparados aos animais confinados, característica interessante para os consumidores interessados em reduzir a quantidade desse componente na dieta. Além disso, os produtos cárneos de animais à pasto apresentam perfil de lipídios adequados e menores quantidades de ácido graxo monoinsaturado, o que pode causar sabor distinto e características culinárias únicas em relação aos animais recebendo suplemento de alto consumo (SMITH et al., 2006; DALEY et al., 2010).

Suplementação da dieta

A intensificação do sistema de produção requer, além do emprego de técnicas de manejo de pastagem, como abordado previamente, a adoção de estratégias nutricionais, como a suplementação da dieta de bovinos em pastejo, bem como a utilização do potencial genético dos animais, através de cruzamentos. Tais estratégias devem ser consolidadas de modo a garantir rentabilidade do sistema de produção, sustentabilidade do ecossistema pastagem e produção de carne de qualidade para o mercado consumidor (DELEVATTI et al., 2019a; CARDOSO et al., 2020).

Nos sistemas de produção intensivos, a suplementação é adotada como uma ferramenta tecnológica de para potencializar a utilização da pastagem, com vistas a uma produção compatível com o mérito genético dos animais e rentável (PAULINO et al., 2004). De modo geral, a suplementação possibilita a produção de animais mais precoces, o aumento da capacidade suporte dos pastos, do ganho por animal e por área, a redução do tempo necessário para atingir peso de abate o que, conseqüentemente, encurta a recria e terminação dos animais em pastejo, além da produção de carne e carcaça de melhor qualidade (POPPI et al., 2018).

Desta forma, tem-se um aumento na taxa de desfrute do rebanho e um rápido giro do capital investido, melhorando a eficiência e rentabilidade deste sistema (GOÉS et al., 2004). Ademais, nos sistemas de manejo do pastejo no qual se busca otimizar o desempenho por animal e por área, é possível minimizar os impactos ambientais da produção de bovinos de corte em pastagens de gramíneas tropicais (CARDOSO et al., 2016; REIS et al., 2016).

A manipulação nutricional via suplemento permite otimizar o desempenho animal em pastejo através do estímulo da atividade microbiana ruminal, corrigindo as deficiências específicas de nutrientes da forragem de modo a atender às exigências nutricionais dos microrganismos ruminais e, conseqüentemente, dos bovinos. As condições favoráveis aos microrganismos, então, são fundamentais para maximizar a atividade de digestão da fração fibrosa e, assim, utilizar com mais eficiência os carboidratos estruturais da forragem, além de complementar a dieta em situações de escassez de forragem (REIS et al., 2012).

A quantidade de proteína e energia necessárias para otimizar a utilização dos nutrientes, no entanto, dependerá da composição química do pasto e da relação proteína bruta/matéria orgânica digestível (MOD), uma vez que a eficiência de utilização dos compostos nitrogenados depende da disponibilidade de energia (REIS et al., 2009). Nesse sentido, a suplementação deve ser precedida da caracterização da quantidade e da qualidade da forragem disponível, principalmente no que se refere às características dos carboidratos e compostos nitrogenados, de modo a garantir o fornecimento dos nutrientes limitantes à atividade microbiana ruminal (BARBERO et al., 2015).

A suplementação de animais em pastagens consiste em uma alternativa para manter o peso dos animais durante o período de seca, e até mesmo proporcionar ganhos satisfatórios (GOÉS et al., 2008). Essa variação entre o observado e o esperado pode ser justificada pela interação entre os componentes do suplemento sobre o consumo de forragem e energia disponível da dieta, com conseqüências importantes na utilização dos nutrientes (GOÉS et al., 2004). Tais efeitos associativos podem ser positivos ou negativos, sendo que o tipo e a magnitude desses efeitos são altamente dependentes da qualidade do volumoso, do nível de inclusão do suplemento na dieta, das características do suplemento utilizado e das exigências nutricionais do animal (MOE, 1979; FERNANDES et al., 2017).

De acordo com Moe (1979), os efeitos associativos positivos, nos quais os suplementos concentrados aumentam o consumo voluntário e/ou a digestão de forragem, geralmente ocorrem em função do fornecimento de um ou mais nutrientes limitantes no concentrado que é deficiente na forragem. Por outro lado, os efeitos associativos negativos são de frequente ocorrência e podem resultar em baixa eficiência de utilização dos grãos, visto que os alimentos concentrados reduzem o consumo voluntário e/ou digestibilidade de forragem.

O nível de inclusão do suplemento na dieta à ponto de interferir no consumo de forragem ainda é controverso. Horn e McCollun (1987); e Caton e Dhuyvetter (1997) alegaram que a suplementação até 0,5% do peso corporal (PC) não causa decréscimo no consumo de forragem e, ainda, que para concentrados com elevados teores de carboidratos rapidamente fermentáveis, os níveis máximos seriam de 0,7 a 0,8% PC. Anos depois, Silveira et al. (2008) afirmaram que a suplementação de forragens de média qualidade (45-65% de FDN) à 1% PC pode causar redução no consumo de forragem e na digestibilidade da matéria orgânica (MO) e fibra. Entretanto, Medeiros et al. (2008) salientaram que desde que se mantenham níveis adequados de proteína degradável no rúmen (PDR) na dieta, a suplementação até 0,8% PC pode causar pequeno efeito no consumo e digestibilidade do volumoso.

Suplementação nas águas

Embora a estação chuvosa do ano seja caracterizada por apresentar condições edafoclimáticas favoráveis à produção de forragem, a forma com que essas condições ocorrem, aliada às estratégias de manejo adotadas e às interações entre qualidade e quantidade do pasto e fornecimento de nutrientes via suplemento, podem proporcionar diferenças na magnitude das respostas à suplementação sobre o desempenho do animal e por área (REIS et al., 2016).

Nesse período, quando as forragens são classificadas como de média a alta qualidade, com teores de compostos nitrogenados acima do mínimo recomendado para plena atividade das bactérias que utilizam os carboidratos estruturais (7% PB), o objetivo da suplementação associada a estratégias de manejo do pastejo que maximizem a produção de estrato pastejável, consiste na prevenção de efeitos deletérios na utilização da FDN potencialmente digestível (FDN_{pd}) da forragem (PAULINO et al., 2006; LAZZARINI et al., 2009). A FDN_{pd}, segundo Reis et al. (2009), consiste em uma entidade nutricionalmente mais adequada para avaliação da

qualidade da forragem e corresponde à porção da FDN que não é digerida pelos microrganismos ruminais devido ao tempo de retenção nos compartimentos de fermentação ser curto para completar a sua digestão.

O uso de suplementos concentrados na estação chuvosa do ano, portanto, deve ser criteriosamente analisado, com estabelecimento de metas a serem alcançadas dentro de um determinado sistema de produção de bovinos de corte (BARBERO et al., 2020; KOSCHECK et al., 2020).

De acordo com Santos et al. (2007a), valores de ganho médio diário (GMD) acima de 800 g durante a estação chuvosa dificilmente são atingidos por bovinos mantidos em pastagens tropicais sem a utilização de suplementação com concentrado. Apesar do alto custo dos ganhos adicionais inerentes ao concentrado nesse período (100 a 200 g a mais/animal/dia), isso pode resultar em redução considerável no período de engorda do animal, quer seja em pasto ou em confinamento, com possíveis retornos econômicos (ROMANZINI et al., 2020).

Uma série de experimentos foram conduzidos na FCAV/UNESP câmpus de Jaboticabal comparando a suplementação de bovinos Nelore durante a recria nas águas com sal mineral *versus* suplementação energética e/ou proteico-energética, combinadas à diferentes alturas de manejo dos pastos ou oferta de forragem (AZENHA, 2010; CASAGRANDE et al., 2011; BARBERO et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016; VIEIRA et al., 2017; KOSCHECK et al., 2020).

Vieira et al. (2017), trabalhando novilhas da raça Nelore suplementadas em pastagens de capim Marandu sob lotação contínua com carga variável, avaliou três alturas do dossel (15, 25 e 35 cm) e três suplementos (sal mineral *ad libitum*, suplemento energético e suplemento protéico-energético, com fonte de proteína não degradável no rúmen – farelo de algodão). O autor verificou que a suplementação a 0,3% PC, independente do suplemento utilizado, aumentou a taxa de lotação dos pastos e o GMD em relação aos animais recebendo mistura mineral nas três alturas de pastejo, no entanto, o ganho por área reduziu com o aumento da altura do pasto em função da queda na taxa de lotação. Vieira et al. (2017) também constataram que o suplemento energético proporcionou ganhos de peso adicionais de aproximadamente 185 g/dia, sem que necessidade de suplementação protéica.

Azenha (2010) avaliou três alturas do dossel de capim Marandu (15, 25 e 35 cm) e duas estratégias de suplementação (sal mineral *ad libitum* e suplemento protéico-energético) e verificou que suplementação protéico-energética fornecida aos

animais a 0,3% PC no período das águas não afeta as características morfogênicas e estruturais em pastos de capim Marandu numa ampla variação de alturas mantidas constantes, com taxas de lotação variável.

Na sequência, Casagrande et al. (2011), ao avaliarem três níveis de oferta de forragem (2,0; 2,5 e 3,0 kg de forragem/kg PC) combinados a dois tipos de suplementos (sal mineral *ad libitum* e suplemento proteico energético a 0,3%PC), verificaram que o uso do suplemento não afetou a taxa de lotação, porém aumentou o ganho de peso por animal e por área comparado à mistura mineral para novilhas Nelore em pastos de capim Marandu, manejados sob lotação contínua com taxa de lotação variável durante a estação chuvosa. Seguindo a mesma linha de pesquisa e tratamentos de Casagrande et al. (2011), porém com tourinhos da raça Nelore recriados em pastos de capim Marandu da mesma área experimental, Oliveira et al. (2016) não verificaram diferença no ganho por área em função da oferta de forragem, mas a oferta de 2,5 kg MS/kg PC proporcionou o maior GMD (0,605 kg/dia). Ainda, os autores constataram que a suplementação proteico-energética na época das águas a 0,3% PC promoveu maiores ganhos por animal e por área quando comparada ao sal mineral, sem considerar as diferentes ofertas de forragem. O suplemento proteico-energético fornecido no trabalho de Casagrande et al. (2011) era composto de 26% de PB e 82% de NDT, enquanto o suplemento utilizado por Oliveira et al. (2016) continha 25% de PB e 67% NDT.

Ademais, Barbero et al. (2015) avaliaram três alturas de pastejo (15, 25 e 35 cm) de pastos de capim Marandu sob lotação contínua com taxa de lotação variável, combinadas à três níveis de suplementação (sal mineral *ad libitum*, suplemento proteico-energético a 0,3% PC e a 0,6% PC). Os autores observaram que o GMD aumentou e o ganho por área diminuiu linearmente com o aumento da altura de pastejo. Além disso, o ganho por área foi maior em pastos manejados a 15 cm com 0,6% de suplementação, sem afetar o desempenho animal.

Por fim, Koscheck et al. (2020) avaliaram diferentes combinações entre alturas do dossel (15, 25 e 35 cm) e níveis de suplementação proteico-energética (0; 0,1; 0,3 e 0,6% PC) de tourinhos Nelore recriados em pastos de capim Marandu, manejados sob lotação contínua com carga variável. Os tratamentos constaram de 1) 15 cm + suplementação 0,6% PC; 2) 15 cm + suplementação 0,3% PC; 3) 25 cm + suplementação 0,3% PC; 4) 25 cm + suplementação 0,1% PC; 5) 35 cm + suplementação 0,1% PC e 6) 35 cm sem suplementação (apenas sal mineral *ad*

libitum). Os autores observaram maior taxa de lotação, e consequente ganho por área, em pastos manejados à 15 cm que, quando combinados à suplementação proteico-energética a 0,3 ou 0,6% PC, promoveram maior eficiência de utilização de nutrientes pelos animais, sem afetar o GMD, quando comparados às alturas de 25 e 35 cm. O maior GMD foi obtido por tourinhos suplementados (0,3 ou 0,6% PC) em pastos mantidos na maior altura. Além disso, os autores concluíram que o manejo dos pastos à 25 cm, combinado à suplementação proteico-energética a 0,3 ou 0,6% PC pode melhorar a produtividade do sistema de produção, de acordo com o fundo econômico.

Suplementação energética

O principal objetivo da suplementação de bovinos em pastejo é aumentar o consumo de energia e nutrientes relativo àquele encontrado com dietas de pastagens exclusivas (PAULINO et al., 2004). Quando forragem e carboidratos facilmente fermentáveis são fornecidos, os microrganismos fibrolíticos têm de competir com os microrganismos que digerem carboidratos não fibrosos (CNF) por substratos como NH_3 , peptídeos, enxofre e esqueletos de carbono de cadeia ramificada para seu crescimento. Uma estratégia adequada de suplementação seria maximizar o uso de forragem através da otimização de sua digestão, incremento da taxa de passagem do resíduo indigestível, e consequente aumento de consumo de NDT (POPPI et al., 2018).

Segundo Poppi e McLennan (1995), ganhos de peso elevados dependem principalmente do suprimento de aminoácidos e de energia transportado aos tecidos dos bovinos, condição essa muito rara em animais sob pastejo exclusivo. Nesse contexto, os mesmos autores alegam que o suprimento de energia pode ser uma estratégia efetiva de obter proteína extra ao animal, uma vez que possibilita que a NH_3 , que geralmente é perdida pela urina, fezes ou saliva, seja capturada e incorporada em proteína microbiana. A produção de proteína microbiana, por sua vez, varia em função da natureza do substrato energético fornecido, seja amido, fibra solúvel, ou açúcares (DEWHURST et al., 2000).

Em sistemas intensivos de produção, gramíneas tropicais manejadas com elevadas doses de N (200 a 500 kg/N/ha) durante o período das águas apresentam cerca de 40 a 50% de conteúdo de compostos nitrogenados na forma solúvel (JOHNSON et al., 2001). Este fato, aliado ao alto conteúdo de carboidratos estruturais

com menores taxas de degradação, promove falta de sincronia entre N e esqueletos de carbonos oriundos da degradação de carboidratos no rúmen, desfavorecendo a síntese de proteína microbiana e a eficiência de utilização de nitrogênio amoniacal ruminal (N-NH_3) (POPPI e MCLENNAN, 1995).

Para Poppi e McLennan (1995), essa condição provoca perdas excessivas de compostos nitrogenados no ambiente ruminal na forma de NH_3 , diminuindo a síntese de proteína microbiana e gerando déficit protéico em relação às exigências para ganhos elevados. Ainda segundo os pesquisadores, a máxima eficiência na síntese de proteína microbiana é atingida quando se observa 160 g de PB/kg MOD, enquanto valores da ordem de 210 g de PB/kg de MOD resultam em apreciável perda de N.

Segundo Reis et al. (2012), neste contexto, as principais limitações para o crescimento microbiano ruminal seriam em função da forragem disponível ao pastejo permitir baixa assimilação do N disponível em proteína microbiana no rúmen, em virtude da alta degradabilidade dos compostos nitrogenados ou menor velocidade de degradação dos carboidratos fibrosos da forragem. Desta forma, o fornecimento de suplementos energéticos com fontes de rápida disponibilidade no rúmen pode promover melhor desempenho animal, por otimizar a assimilação microbiana do N oriundo dos compostos nitrogenados de alta degradabilidade da forragem (DETMANN et al., 2014).

Em revisão de Reis et al. (2009), os autores reportaram que durante estação chuvosa, gramíneas tropicais apresentam digestibilidade entre 55 e 65%, além de PB entre 7,9 e 17,4 % na sua composição, o que pode resultar em diferentes relações de PB/MOD. Avaliando experimentos conduzidos no período das águas, observou-se que mesmo nos animais recebendo apenas sal mineral, os valores de NH_3 ruminal estão acima do nível crítico, de 8 mg de N-NH_3 /dL de líquido ruminal (DETMANN et al., 2014). No entanto, apenas quando os animais foram suplementados constataram-se, nas primeiras 6 horas após o fornecimento do concentrado, níveis ótimos de N-NH_3 no rúmen para o máximo crescimento microbiano, ou seja, superior a 20mg de N-NH_3 /dL de líquido ruminal.

De acordo com Leng (1990), a inclusão de grãos em dietas volumosas pode reduzir a digestibilidade da fibra, sendo este fenômeno inerente a dois efeitos que interferem no crescimento de bactérias celulolíticas: um efeito específico (queda no pH) e um efeito não-específico (efeito carboidrato). Em ruminantes mantidos em pastagens tropicais, a variação do pH ruminal em função da suplementação da dieta

parece ser relativamente pequena, não afetando o crescimento das bactérias que utilizam carboidratos fibrosos. Nesse sentido, a disponibilidade dos carboidratos solúveis é responsável pela depressão da digestibilidade da fibra, conforme relatado por Rooke et al. (1987) e Huhtanen (1987), sendo reflexo da alta efetividade das fibras longas que atuam na manutenção das condições ruminais (MERTENS, 1994).

Para Dixon e Stockdale (1999), os efeitos associativos citados anteriormente entre forragem e suplemento são considerados positivos quando o consumo de energia metabolizável (EM) é maior que o esperado dos componentes da dieta se tivessem sido fornecidos separadamente; e negativos quando o consumo de EM é menor que o esperado. O decréscimo no consumo de MS de forragem por unidade de suplemento é denominado taxa de substituição.

Os efeitos associativos negativos em forragens de baixa a média qualidade são atribuídos aos carboidratos de rápida fermentação da dieta sem adição de PDR, que reduzem o consumo e a taxa de digestão ruminal dos componentes fibrosos da forragem (SILVEIRA et al., 2008). Comparativamente, quando fornecidos com PDR adequada, suplementos energéticos com carboidratos prontamente disponíveis podem ter eficiências e conversões aceitáveis, e aumentar o desempenho de bovinos pastejando forragens de baixa qualidade em função da maior digestibilidade de forragem (SILVEIRA et al., 2008).

Neste contexto, portanto, a meta de um programa de suplementação para animais em pastejo é satisfazer as exigências dos através de ação interativa e associativa entre a forragem basal e as fontes suplementares. Assim, pode-se potencializar os efeitos associativos positivos e minimizar as interações negativas, de modo a aumentar o consumo e otimizar a utilização da forragem, e não apenas o atendimento direto das exigências dos animais via suplemento (PAULINO et al., 2004).

Polpa cítrica

A indústria de suco de laranja e outras frutas cítricas produz como subproduto o bagaço ou polpa cítrica, que compreende entre 45 e 58% do total das frutas. A polpa cítrica é composta pelas cascas, membranas, vesículas e sementes da laranja. Nutricionalmente, caracteriza-se como um produto intermediário entre volumosos e concentrados, rica em pectina, celulose e polissacarídeos hemicelulósicos (BAMPIDIS e ROBINSON, 2006; FRANZOLIN e FRANZOLIN, 2000).

De acordo com Rostagno et al. (2017), a polpa cítrica vem sendo utilizada na nutrição animal como alternativa para reduzir os custos com rações, sem prejuízos ao desempenho, principalmente por ser considerado um alimento energético, com aproximadamente 3700 kcal/kg.

Na nutrição animal, o milho se trata do principal ingrediente de suplementos energéticos, e contém em torno de 72% de amido, 9% de PB, baixo conteúdo de fibra, além de ser a maior fonte de EM entre os cereais (LOY e LUNDY, 2019). No entanto, o milho é um ingrediente tradicionalmente consumido por humanos, o que, no contexto de sustentabilidade do sistema, gera competição entre a pecuária e sociedade (MOTTET et al., 2018).

Na busca por alimentos alternativos não consumidos por humanos e por ingredientes menos onerosos na ração de bovinos, a polpa cítrica tem sido utilizada para substituir o milho, tendo em sua composição 85-90% do valor energético deste ingrediente (NRC, 2000), além de apresentar pouco ou nenhum efeito negativo na fermentação ruminal em comparação a alimentos ricos em amido (BAMPIDIS e ROBINSON, 2006).

Embora seja economicamente atraente, a utilização da polpa cítrica no Brasil na nutrição de ruminantes ainda provém de poucas pesquisas sobre os seus benefícios em relação aos aspectos nutricionais, produtivos e econômicos na alimentação de bovinos de corte mantidos em pastagens. Provavelmente, em função da falta de informações, o subproduto ainda é pouco utilizado por produtores, por receio de reduzir o desempenho ou até mesmo afetar a saúde de seus animais. Todavia, alguns estudos já reportaram que a polpa cítrica não afeta o consumo de nutrientes (BELIBASAKIS e TSIRGOGIANNI, 1996; MENEZES JR. et al., 2000; ÍTAVO et al., 2000).

Em geral, a polpa é caracterizada pela alta digestibilidade da MS, elevado teor de fibra, alto teor de carboidratos solúveis e parede celular altamente digestível (ÍTAVO et al., 2000; MULLER e PRADO, 2004; PINHEIRO et al., 2000). Em sua composição química, a polpa cítrica apresenta aproximadamente 89-90% de MS; 6 - 11% de PB; 2 - 12% de extrato etéreo (EE), sendo este valor dependente da extração ou não dos óleos durante o processamento; 6% de matéria mineral (MM), 57 - 74% de extrativo não nitrogenado (ENN); 7-8% de fibra bruta (FB); 25-41% de FDN; 14% de FDA; 1% de lignina, 0,2% de amido, 22-25% de pectina; 3,88 mg de vitamina

C/100g de subproduto, 1,6 - 1,8% de cálcio e baixo teor de fósforo (0,08 - 0,75%) (BAMPIDIS e ROBINSON, 2006; OLUREMI et al., 2006; WATANABE et al., 2010).

A pectina consiste em um carboidrato estrutural, componente da fração solúvel da fibra, que por sua vez é um polímero de ácido galacturônico (SANTOS et al., 2007b). Segundo Van Soest (1994), as pectinas são encontradas principalmente na lamela média e o seu conteúdo decresce da parede celular primária para a secundária. Ainda, as pectinas atuam como cimento entre as células e entre outros compostos da parede celular, podendo ultrapassar 20% da MS de alguns tecidos (GRENET e BESLE, 1991). Segundo Muller e Prado (2004), subprodutos com alta concentração de pectina possuem grande potencial de uso na nutrição de ruminantes, por apresentarem alta densidade energética, além de fermentação favorável, sem a produção de ácido láctico, o que mantém condições adequadas ao funcionamento ruminal.

Em experimento com bovinos de corte, Pinheiro et al. (2000) avaliaram efeitos da substituição de níveis de milho (40, 60, 80 e 100%) pela polpa cítrica peletizada, sobre o coeficiente de digestibilidade da MS, MO, energia bruta (EB), FDN e PB. Os autores observaram que nos níveis 40 e 100% de substituição do milho por polpa cítrica, os coeficientes foram semelhantes (exceto de PB), porém maiores do que os níveis de 60 e 80%. Por outro lado, Schaibly e Wing (1974) reportaram aumento de 63,9 para 75% na digestibilidade da MS quando substitui milho por polpa cítrica. Ainda, Esteves et al. (1987) constataram aumento na digestibilidade da PB à medida que aumentava a substituição da espiga de milho desintegrada com palha e sabugo pela polpa cítrica, variando entre 68% e 77%.

Bruno Filho et al. (2000), ao avaliarem digestibilidade de dois tipos de polpa cítrica peletizada (normal e queimada), e dois níveis de inclusão na dieta: 40 e 60%, não observaram diferenças nos coeficientes entre os tipos, e tampouco interação entre o tipo e o nível de inclusão. Porém, concluíram que independentemente do tipo, a polpa cítrica aumenta a densidade energética das rações, podendo ocorrer ganhos em desempenho animal.

Por conter baixíssimo teor de amido, a polpa cítrica pode favorecer o pH ruminal, evitando decréscimo acentuado no pH ruminal durante a digestão, que pode causar distúrbios metabólicos, além de proporcionar máxima atividade celulolítica e maior relação acetato:propionato (CULLEN et al., 1986; STROBEL et al., 1986;

BELYEA et al., 1989; VAN SOEST et al., 1991; VAN SOEST, 1994; PORCIONATO et al., 2000).

Em estudo conduzido por Menezes Jr. et al. (2000) para avaliar os efeitos de dois tipos de processamento do grão de milho (moído grosso e floculado), juntamente com a inclusão ou não de polpa cítrica peletizada na dieta de vacas leiteiras, os autores reportaram que a inclusão do subproduto não afetou o consumo de MS e o pH ruminal, mas aumentou a concentração de acetato ruminal. Além disso, a inclusão da polpa aumentou a eficiência alimentar, o percentual e a produção de gordura no leite, alterando o perfil de fermentação ruminal.

Ainda com gado de leite, Assis et al. (2000a, b) avaliaram os efeitos da substituição de 0; 33; 67 e 100% do milho pela polpa cítrica sobre o pH e N-NH₃. A substituição do milho pela polpa cítrica não alterou os parâmetros ruminais, como pH e N-NH₃, e as rações com volumoso mantiveram os níveis normais de ácido acético. No entanto, o aumento da inclusão de polpa cítrica na ração não reduziu a concentração de ácido acético, assim esperado com a adição de outros concentrados.

Segundo Bhattacharya et al. (1973), geralmente, a relação acetato:propionato é mantida quando a polpa cítrica é adicionada à dietas com somente volumoso e, ainda, a aceitabilidade das rações contendo polpa cítrica é comparável àquelas que contêm milho.

Em trabalho conduzido por Oliveira et al. (2016), foram estudados os efeitos de três alturas de pastejo de capim Marandu (15, 25 e 35 cm) e três suplementos fornecidos a tourinhos Nelore em fase de recria, sendo suplemento mineral e dois suplementos proteico-energético, um à base de milho e outro à base de polpa cítrica, fornecidos diariamente na quantidade de 0,3% PC. Foi possível observar que os animais suplementados com polpa cítrica tiveram maior consumo de MS, PB, EE, CNF e NDT do que os animais que receberam mistura mineral, porém, foram semelhantes aos suplementados com milho. O consumo de MO e FDN, no entanto, foi maior nos animais suplementados com polpa cítrica em relação ao milho. O pH ruminal dos animais suplementados com milho foi menor em relação àqueles suplementados com polpa cítrica. O N-NH₃ dos animais suplementados com polpa cítrica foi menor em relação àqueles suplementados com milho. No entanto, não houve efeitos sobre a síntese de proteína microbiana, eficiência microbiana, excreção e retenção de N entre as fontes energéticas. A digestibilidade da FDN na dieta de novilhos suplementados com milho foi reduzida, e não houve efeito da suplementação

com polpa cítrica. Os autores concluíram que a polpa cítrica como fonte de energia em suplementos fornecidos na quantidade de 0,3% PC pode ser utilizada na suplementação de tourinhos Nelore no período das águas, sem comprometer o consumo de forragem e a digestibilidade da fibra, melhorando a eficiência microbiana ruminal.

Desempenho animal em pastagens

O desempenho de animais em pastejo é um indicativo da qualidade da forragem e está diretamente relacionado ao consumo de nutrientes necessários para atender às exigências de manutenção e produção animal (REIS e DA SILVA, 2006). Nesse sentido, sob condições sanitárias e de manejo adequadas, aliado às questões genéticas do animal, o desempenho animal é o produto do consumo de forragem, valor nutritivo, oferta de forragem e metabolismo, isto é, é o reflexo do consumo e eficiência de utilização de nutrientes metabolizáveis (POPPI et al., 1987).

Desta forma, pode-se inferir que a produção animal à pasto é o resultado da eficiência de três processos: produção de forragem, consumo de forragem pelos animais e conversão da forragem em produto animal (DA SILVA e CARVALHO, 2005). Ainda, é preciso considerar que as pastagens consistem em ambiente heterogêneo, no qual os animais colhem e selecionam a forragem disponível e, neste ponto, a estrutura do dossel forrageiro desempenha papel primordial no consumo (REIS et al., 2006).

O entendimento do consumo de forragem pelo bovino também é importante do ponto de vista do manejo dos recursos forrageiros, pois a estimativa do consumo é essencial para o ajuste da taxa de lotação das pastagens. Assumindo-se que o consumo não seja limitante, o animal poderá expressar o seu potencial máximo de desempenho (CARVALHO et al., 2007).

Desempenho animal x consumo e digestibilidade da forragem

Na nutrição animal, a ingestão de MS é o fator mais importante, visto que estabelece as quantidades de nutrientes disponíveis e necessárias para saúde e produção animal (NRC, 2016). As estimativas de consumo em bovinos de corte são vitais para a predição do ganho de peso, assim como para o estabelecimento dos requerimentos nutricionais dos animais, necessários à formulação das dietas (VIEIRA et al., 2017). Nesse sentido, o consumo de MOD fornece uma medida integrada de

consumo e digestibilidade, que claramente representa consumo de energia digestível e, portanto, relaciona-se diretamente com o desempenho animal (POPPI e McLENNAN, 1995; REIS et al., 2009).

De acordo com Euclides et al. (2009), o consumo só será controlado pelo valor nutritivo da forragem caso a quantidade de forragem disponível não seja limitante. Em suma, fatores intrínsecos ao animal como demanda fisiológica de nutrientes para atender suas exigências nutricionais estabelecem o consumo potencial, e características da dieta e do ambiente estabelecem o consumo real (relativo) (PAULINO et al., 2004). Assim, Hodgson e Brookes (1999) descreveram três fatores afetando consumo de forragem por bovinos em pastejo: (1) demanda por nutrientes ou exigência nutricional do animal, determinada pelo seu mérito genético e estado fisiológico; (2) saciedade física ou fatores associados à distensão do trato alimentar; e (3) restrições comportamentais ou limites para o consumo de MS potencial de pasto, resultante da combinação de fatores da pastagem e do animal afetando o comportamento ingestivo.

Além dos fatores intrínsecos ao dossel forrageiro e ao animal, de acordo com Mertens (1994), a ingestão de alimentos por bovinos também pode ser controlada pelos seguintes mecanismos: (1) psicogênico, que envolve a resposta animal a fatores inibidores ou estimuladores relacionados ao alimento e ao ambiente; (2) fisiológico, em que o controle é feito pelo balanço nutricional da dieta, especificamente relacionado à manutenção do equilíbrio energético; (3) físico, associado à capacidade de distensão do próprio rúmen e ao teor de FDN da dieta.

A digestibilidade da fibra é outro fator determinante do consumo de MS, sendo característica exclusiva do alimento que indica a porcentagem de cada nutriente que o animal pode utilizar e, assim, influencia diretamente o consumo voluntário (VAN SOEST, 1999). Segundo o autor, a fração da FDN de plantas forrageiras, de baixo a moderado valor de digestibilidade, pode limitar o consumo em função do enchimento ruminal, visto que a fermentação e a passagem da FDN pelo rúmen-retículo são mais lentas do que outros constituintes dietéticos.

Desempenho animal x suplementação

Além da quantidade e qualidade da forragem disponível, outro fator que interfere diretamente no desempenho animal é a quantidade e as características nutricionais do suplemento fornecido aos animais em pastejo (REIS et al., 2010).

Neste contexto, o enfoque principal é explorar as oportunidades para aumentar o consumo de EM via aumento no consumo e digestão de forragem, através dos suplementos concentrados (PAULINO et al., 2004). Para isso, portanto, deve-se considerar os ingredientes utilizados e a qualidade da forragem, a qual varia de acordo com espécie forrageira, adubação, manejo do pastejo, época do ano, no ato da formulação das dietas (BARBERO et al., 2015).

Segundo Paulino et al. (2004), a resposta produtiva à suplementação é afetada por fatores relacionados ao animal, ao pasto, ao suplemento e às interações pasto x suplemento. Dentre os fatores relacionados ao animal, destaca-se o valor genético, a categoria e tamanho do animal, estado fisiológico, sanidade, comportamento ingestivo e o desempenho desejado. Já em relação ao pasto, os principais fatores incluem a oferta de forragem com FDNpd, que envolve a qualidade e estrutura do pasto (massa de forragem, altura do pasto, relação folha:colmo). Por fim, no que diz respeito ao suplemento, salientam-se a quantidade e tipo de suplemento.

O suprimento de CNF pelos concentrados pode ter efeitos positivos ou negativos sobre digestão no rúmen e dinâmica de N, dependendo da quantidade fornecida ou pré-existente de proteína, além do conteúdo de parede celular da dieta e do tipo de carboidrato (amido, pectina, açúcar), sendo que a ingestão de matéria digestível se reduz à medida que aumenta o teor de CNF do suplemento (GOÉS et al., 2004).

De acordo com Poppi e McLennan (1995), o ganho de peso do animal depende principalmente do suprimento de aminoácidos e de substratos energéticos transportados para os tecidos, dentro do limite genético para a síntese de proteínas, que provavelmente não é atingido para animais que consomem apenas forragem. Na estação chuvosa, é improvável que os pastos sejam deficientes em PB, visto que geralmente excedem 7 a 8% PB, abaixo do qual o consumo geralmente é reduzido.

Na estação chuvosa, quando os pastos são eficientemente manejados e com adequado valor nutritivo, pode-se obter ganhos satisfatórios por animais em pastejo sem uso da suplementação (LIPPKE et al., 2000). Segundo Poppi e McLennan (1995), animais apresentam ganhos de 0,7 kg/dia em pastagens tropicais do nordeste da Austrália e entre 1,0 e 1,4 kg/dia em pastagens de clima temperado na Nova Zelândia. Em contrapartida, Reis et al. (2004), ao revisar trabalhos do Brasil, reportaram ganhos variando entre 0,06 kg/dia na época seca e 0,960 kg/dia na época das águas, com média de 0,437 kg/dia.

Em revisão feita por Ramalho (2006), compilando 23 trabalhos que avaliaram o desempenho de animais mantidos em pastagens de *Brachiaria decumbens*, *B. brizantha* cv. Marandu, *Cynodon dactylon* cv. Coastcross e *Panicum maximum* cv. Mombaça, o autor relatou que a suplementação pode gerar ganhos adicionais de 0 a 300 g/dia, com média 0,160 kg/cab/dia. Dentre estes trabalhos, o GMD dos animais não suplementados foi de 0,730 kg em pastos com teores de PB entre 8,8 e 24%, enquanto animais suplementados a níveis entre 0,5 e 1%PC nesses pastos apresentaram GMD de 0,883 kg. A maior diferença encontrada foi de 0,300 kg/dia a favor de animais suplementados.

Síntese de proteína microbiana

Segundo Wallace et al. (1997), o N utilizado pelas bactérias ruminais é proveniente tanto da degradação da proteína verdadeira da dieta, como de nitrogênio não-protéico (NNP), a exemplo da ureia. As bactérias ureolíticas, localizadas no epitélio ruminal, produzem a enzima urease, capaz de desdobrar a ureia em NH_3 e gás carbônico (CO_2) no rúmen. A fração proteína que é degradável no rúmen sofrerá ação sequencial de proteases, peptidases e deaminases, resultando em uma mistura de peptídeos, aminoácidos e NH_3 no conteúdo ruminal (BACH et al., 2005). Ao entrar na célula bacteriana, os peptídeos serão hidrolisados e a maior parte de seus aminoácidos serão deaminados. Os α -cetoácidos resultantes podem ser fermentados até ácidos graxos voláteis (AGV) ou excretados da bactéria para o fluido ruminal (BACH et al., 2005).

Para que a NH_3 ruminal seja utilizada pelos microrganismos para a síntese de proteína microbiana, é essencial a presença de esqueleto carbônico, uma fonte de energia oriunda de celulose, amido, pectina, ou até mesmo dos esqueletos carbônicos resultantes da degradação da proteína verdadeira (KOZLOSKI, 2011). Segundo o mesmo autor, a maioria das bactérias ruminais produz suas proteínas utilizando aminoácidos sintetizados a partir de NH_3 e de cadeias de carbono precursoras, mas algumas espécies também utilizam aminoácidos pré-formados e que entraram na célula livres, ou como peptídeos.

A proteína microbiana assim formada apresenta alto valor biológico e pode representar de 50 a 80 % da proteína metabolizável (PM) no intestino delgado do ruminante (SINCLAIR et al., 2014), e sua síntese ruminal varia acentuadamente com

a dieta, especialmente em relação ao suprimento de N, nível de alimentação e o suprimento de peptídeos e aminoácidos (POPPI e McLENNAN, 1995).

A amônia (NH_3) que não é incorporada pelos microrganismos é absorvida pela parede do rúmen e atinge a corrente sanguínea, sendo novamente convertida em ureia pelo fígado, já que esta é menos tóxica do que a NH_3 ao organismo animal (KOZLOSKI, 2011). A ureia é então excretada via urina ou reciclada através da saliva ou diretamente por absorção da parede do rúmen. Além de requerer um gasto energético pelo animal, essas excreções resultam em perdas econômicas, podendo também ser prejudicial ao meio ambiente, através das perdas de N por volatilização da NH_3 , emissão de óxido nitroso e lixiviação de nitrato (ABOAGYE et al., 2018).

De acordo com Poppi e McLennan (1995), o suprimento de aminoácidos ao animal depende do conteúdo de proteína da dieta, de sua transferência líquida através do rúmen para o intestino como proteína não degradada no rúmen (PNDR) e proteína microbiana, e de sua absorção no intestino delgado. A deposição de proteína, por sua vez, depende da eficiência de uso da proteína absorvida, que varia com a disponibilidade de substratos não proteicos produtores de energia e de aminoácidos essenciais limitantes. Dessa forma, fornecer energia ao rúmen pode ser uma maneira eficaz de fornecer proteína extra ao animal, seja permitindo que a NH_3 normalmente perdida seja capturada, ou através uso de NNP e suplementos energéticos para produzir mais proteína microbiana. Na ausência de substituição, cerca de 1,2 kg de grãos seriam necessários para fornecer 150 g adicionais de proteína microbiana.

A concentração de N- NH_3 no rúmen é indispensável para o crescimento microbiano, desde que associada a fontes de energia, e está diretamente relacionada à solubilidade da proteína dietética e à retenção de N pelo animal (CABRAL et al., 2008). Os autores ressaltam, com isso, a importância da relação do teor de proteína com a digestibilidade, podendo ocorrer excesso de proteína nas dietas de ruminantes à base de plantas forrageiras tropicais, mesmo que essas tenham teores relativamente baixos de proteína.

Nas condições em que a maioria dos pastos de gramíneas tropicais no Brasil é mantida, ou seja, em solos com baixa fertilidade e sem adubações sob sistemas de produção extensivos, a forragem geralmente apresenta valores menores do que 160 g de PB/kg de MOD (SANTOS et al., 2005). No entanto, em pastos adubados intensivamente com altas doses de N, a forragem pode apresentar teores superiores

a 14% PB, sendo a proteína de alta degradabilidade ruminal, que, consequentemente, gera mais de 210 g PB/kg MOD (SANTOS et al., 2005), condição esta que acarreta baixo aproveitamento da proteína da forragem durante os processos de degradação ruminal e síntese de proteína microbiana (POPPI e McLENNAN, 1995).

Ainda sob condições de alta quantidade de proteína solúvel na estação chuvosa, a maior parte da PM é proveniente da microbiota ruminal, visto que a síntese de proteína microbiana é limitada também pelo suprimento de substratos prontamente disponíveis (POPPI et al., 2018). Russell et al. (1992) alegam que a fermentação ruminal e a produção de proteína microbiana podem ser otimizadas quando o consumo de energia e proteína estão em equilíbrio, na medida em que o excessivo consumo de proteína, sem adequação energética, pode proporcionar significativa perda de N pela urina.

Isso é o que acontece em pastos adubados com altas doses de N, que apresentam teores de PB além da disponibilidade energética do capim, resultando em uso ineficiente da proteína da forragem (REIS et al., 2012). Neste contexto, a suplementação energética atua como estratégia para melhorar a utilização da proteína de pastos com proteína de alta degradabilidade ruminal, aumentando, dessa forma, o crescimento microbiano e o suprimento de proteína microbiana para o intestino delgado e, consequentemente, o desempenho animal (MALAFAIA et al., 2003).

O pH ruminal tem sido citado como o principal responsável pela diminuição da ingestão de forragem por afetar a atividade fibrolítica (GOÉS et al., 2008). No entanto, nem sempre isso explica as reduções no consumo e na digestibilidade da forragem associadas à suplementação energética, principalmente quando é fornecida a menos de 2 g/kg PC (CANTON e DHUYVETTER, 1997). Olson et al. (1999) observaram redução de pH à medida que se aumentava a suplementação energética ou com PDR, em função do aumento da atividade fermentativa no rúmen, resultando em maior produção de AGV. Já Goés et al. (2005b), ao avaliarem níveis crescentes de suplementação de 0; 0,125; 0,25; 0,50 e 1,0% PC, encontraram um perfil de estabilidade do pH entre todos os níveis de fornecimento, nos quais não foi inferior a 6,2. Portanto, a queda de pH por si só não explica a redução na ingestão e na digestibilidade da forragem.

De acordo com Malafaia et al. (2003) e Goés et al. (2005b), animais suplementados com energia apresentam menor concentração de NH_3 ruminal e maior

produção de AGV, o que pode ser responsável pela redução do pH, mesmo se este se mantiver entre 6,4 e 6,6. A queda na concentração de NH_3 ruminal pode ser explicada pela maior demanda microbiana por N, uma vez que ocorre aumento na concentração de substratos digestíveis. A adição de amido ou pectina apresenta competição principalmente pelo N, entre as bactérias celulolíticas e amilolíticas, o que resulta em alterações no ambiente ruminal, diminuindo a digestibilidade da fibra de animais suplementados.

Fatores que afetam a síntese de proteína microbiana

O conjunto de todos os aminoácidos que estão disponíveis para digestão e posterior absorção intestinal compõe a PM, incluindo a PNDR, a proteína endógena e parte da proteína microbiana, que pode suprir de 50 a 100% das exigências de PM para bovinos de corte (CERVIERI et al., 2001; SINCLAIR et al., 2014). Dessa forma, tem sido objetivo da nutrição dos ruminantes maximizar o fluxo de proteína microbiana para o intestino delgado, de modo a aumentar a eficiência produtiva do animal.

Entre os fatores que afetam a síntese de proteína microbiana, destacam-se as fontes de carboidratos e proteínas, o sincronismo entre as funções ruminais, os níveis de ingestão voluntária, a frequência de alimentação, a qualidade da forragem e a relação forragem/concentrado na dieta, a reciclagem ruminal dos microrganismos e os fatores antinutricionais das plantas (RODRÍGUEZ et al., 2007).

Ao aumentar a ingestão voluntária dos animais, o fluxo de saída de proteína microbiana do rúmen é aumentado e, assim, o custo de manutenção dos microrganismos é reduzido, uma vez que passam menos tempo no rúmen (WEBSTER et al., 2003). Singh et al. (2007) verificaram que o fornecimento de proteína microbiana ao duodeno aumentou linearmente pelo aumento da ingestão voluntária. No entanto, ao expressar o rendimento microbiano em função do consumo de MOD, não houve efeito sobre a produção de proteína microbiana.

Além disso, a sincronização da disponibilidade de energia fermentável e N degradável no rúmen pode maximizar a síntese de proteína microbiana e isso se deve aos efeitos específicos de nutrientes individuais, particularmente proteínas e frações de energia (ZHU et al., 2000). Por outro lado, durante o pastejo, níveis relativamente elevados de açúcar solúvel e produtos de degradação de proteínas são disponibilizados por longos períodos para os microrganismos, pela ação de plantas e enzimas microbianas (ZHU et al., 2000). Fatores como nível, tipo e equilíbrio de

diferentes fontes de carboidratos podem assumir maior importância, particularmente quando as variações no teor de açúcar solúvel e outros nutrientes do capim forem consideradas ao longo das estações do ano (DEWHURST et al., 2000).

De acordo com Pathak (2008), a proteína da dieta atua como fonte de PM para os ruminantes, fornecendo PDR para a síntese de proteína microbiana e PNDR para absorção no intestino. A síntese de proteína microbiana depende de fontes adequadas de N e carboidratos. Nesse sentido, Rodríguez et al. (2007) reporta que a estrutura das proteínas da dieta define sua degradação no rúmen e a contribuição para o N disponível para os microrganismos. A amônia é a principal fonte de N dos microrganismos ruminais, mas a disponibilidade da dieta de aminoácidos, peptídeos, e ambos juntos aumentam o crescimento de bactérias celulolíticas e amilolíticas (KOZLOSKI, 2011), principalmente em função da incorporação direta à proteína microbiana ou ao aumento da disponibilidade de esqueletos de carbono que podem ser usados como fonte de energia ou na síntese de aminoácidos microbianos (VAN SOEST, 1994).

Em dietas mistas de forragens e concentrados, pode-se aumentar a síntese de proteína microbiana em função da melhor sincronização da liberação de nutrientes, adequado ambiente ruminal para manutenção das diversas espécies de microrganismos, aumento das quantidades e tipos de substratos, maior consumo de nutrientes e, conseqüentemente, aumento da taxa de passagem de sólidos e líquidos (GOMES et al., 1994). Enquanto as forragens podem fornecer N como proteína altamente degradável ou NNP, os concentrados podem fornecer N principalmente como peptídeos e/ou aminoácidos necessários para a síntese de proteína microbiana (POPPI e McLENNAN, 1995). Segundo Pathak (2008), a eficiência tende a aumentar quando o carboidrato prontamente fermentável é suplementado em menos de 30% da dieta total, mas diminui quando o nível de suplementação é maior que 70%.

Efeito da sincronização das funções do rúmen e reciclagem de proteína microbiana

Para entender a relação entre energia e proteína fornecidas aos microrganismos ruminais, o conceito de sincronização no rúmen é importante (RODRÍGUEZ et al., 2007). Segundo Ørskov (1992), a síntese de proteína microbiana pode ser maximizada se a disponibilidade de energia fermentável e a de N não degradado pelos microrganismos no rúmen forem sincronizadas. Quando a taxa de degradação das proteínas excede a dos carboidratos, grandes quantidades de N são

perdidas na forma de NH_3 . No entanto, quando a taxa de degradação dos carboidratos excede a da proteína, a produção de proteína microbiana pode ser prejudicada (NOCEK e RUSSELL, 1988).

A relação ótima entre os carboidratos não estruturais e a NH_3 ainda não foi totalmente definida na literatura. Hoover e Stokes (1991) sugeriram que em condições de pH controlado, o crescimento microbiano máximo é obtido com uma proporção de carboidratos não estruturais/PDR de 2/1. Embora essa relação não tenha sido atingida em condições práticas, a importância de fornecer quantidades adequadas de N degradável foi de fato comprovada, quando a energia não é um fator limitante (BACH et al., 2005).

Segundo Pathak (2008), para aumentar a síntese de proteína microbiana, a manipulação da energia e da fermentação do N no rúmen deve primeiramente objetivar obter o padrão de suprimento de energia ruminal mais uniforme possível dentro de um determinado regime alimentar e depois fornecer a quantidade diária total de N disponível no rúmen, suficiente para o uso da quantidade total de energia esperada para ser liberada no rúmen.

Dessa forma, combinar a liberação de N-NH_3 da proteína dietética com a liberação de energia utilizável pode melhorar a utilização de N (POPPI e McLENNAN, 1995). Herrera-Saldana (1990) verificou que a sincronização para fermentação rápida com amido altamente degradável no rúmen e fontes de proteína estimulou maior fluxo de proteína microbiana para o duodeno, quando comparada com dietas sem sincronismo entre N e energia.

O horário de fornecimento do suplemento conciliado com o hábito de pastejo dos animais é um fator determinante no aproveitamento dos nutrientes advindos da forragem e do suplemento, de modo a maximizar seu aproveitamento e a síntese de proteína microbiana, visto que trabalhos de comportamento ingestivo de novilhas da raça Nelore mostram que a maior período de pastejo pelos animais ocorre no período da tarde, mais especificamente entre 14 e 17h (PÁSCOA, 2009; CASAGRANDE et al., 2011). Nesse sentido, o fornecimento do suplemento energético no final da tarde pode ser uma estratégia eficiente para otimizar o desempenho animal, na medida em que permite maior captura do N em excesso da forragem pelo substrato energético fornecido, garantindo o maior balanço de N e energia no rúmen e reduzindo as perdas de N pela urina.

Fonte energética

Segundo Rodríguez et al. (2007), o fator mais importante que limita a síntese de proteína microbiana no rúmen é a energia liberada no rúmen durante a fermentação dos carboidratos em ácidos orgânicos. Nesse sentido, as características da fonte de carboidratos afetam a taxa de síntese microbiana. Segundo Patton (1994), as fontes de carboidratos são classificadas em dois grupos: as ricas em carboidratos não estruturais (açúcares, amidos) e as ricas em carboidratos estruturais (pectinas, celulose, hemicelulose).

Quando se usa a celulose como única fonte de energia, o crescimento microbiano pode ser reduzido e, ainda, as quantidades de lignina na dieta podem afetar a degradação dos carboidratos estruturais (VAN SOEST, 1994). Por outro lado, a síntese de proteína microbiana é otimizada pela inclusão de quantidades moderadas de carboidratos prontamente fermentáveis na dieta, em função do aumento da disponibilidade de substratos e da taxa de crescimento das bactérias, associadas à fase líquida de a digestão (DEWHURST et al., 2000).

A eficiência da síntese de proteína microbiana também pode aumentar em virtude do aumento do tamanho de partícula da fração fibrosa em dietas com grandes quantidades de concentrados energéticos, por melhorar as condições ruminais pelo aprimoramento dos processos de ruminação e salivação. Da mesma forma, há incremento no aumento da digestibilidade da MO (YANG et al., 2002; YANG e BEAUCHEMIN, 2005).

Os suplementos energéticos podem ser divididos em três tipos: amido (exemplo: milho e sorgo), açúcares (exemplo: melaço) e fibra (exemplo: polpa cítrica, polpa de beterraba e de abacaxi). Estudos antigos relataram que a polpa de beterraba sacarina e polpa de abacaxi foram eficazes na captura da NH_3 , por serem fontes de fibras de alta digestibilidade e baixo teor de proteína (BEEVER e SIDDONS, 1986; TOHARMAT et al., 1992). A degradação mais lenta da fibra provavelmente permite uma melhor sincronia entre a energia e a liberação de NH_3 (POPPI e McLENNAN, 1995).

A inclusão do amido na dieta de ruminantes pode afetar de várias formas os microrganismos ruminais. De acordo com Russell e Wallace (1997), o amido pode ter efeito negativo sobre a síntese microbiana no rúmen, visto que sua fermentação diminui o pH ruminal, afeta a degradação da fibra, aumenta as perdas de energia nos microrganismos e diminui a síntese de aminoácidos. Por outro lado, estudos

mostraram que os açúcares solúveis (sacarose, lactose e frutose) aumentam ainda mais a síntese de proteína microbiana no rúmen, quando comparados ao amido (CHAMBERLAIN et al., 1993).

A função primária do metabolismo dos carboidratos microbianos é liberar o ATP necessário para o crescimento microbiano. Assim, os padrões e taxas do metabolismo do N microbiano são dependentes das taxas de fermentação de carboidratos (HOOVER e STOKES, 1991). Existem os grãos fermentados rapidamente (por exemplo, trigo e cevada) e aqueles pouco fermentados (por exemplo, sorgo e milho), dos quais quantidades significativas de amido escapam da fermentação ruminal (AXE et al., 19871). Nesse sentido, além de diferirem na digestão do amido, influenciam na captura de NH_3 e na síntese microbiana no rúmen e, conseqüentemente, no suprimento de proteína ao intestino (CHAMBERLAIN et al., 1993).

Uso de taninos condensados para mitigação de metano entérico

A produção de metano (CH_4) entérico pelos ruminantes é um processo fundamental para o funcionamento adequado do sistema digestivo, mas resulta em perda da energia bruta ingerida e, conseqüentemente, reduz o crescimento e desenvolvimento animal (BERÇA et al., 2019). Apesar de serem citados como vilões do aquecimento global, os bovinos de corte são responsáveis por apenas 4,6% das emissões de CH_4 entérico do total mundial de emissões de gases de efeito estufa (GEE; EPA, 2021).

Embora os ionóforos sejam os aditivos mais utilizados e pesquisados na nutrição animal, por apresentarem o potencial de reduzir as emissões de CH_4 e o consumo de matéria seca sem afetar o desempenho animal (TEDESCHI et al., 2011), o uso excessivo de antibióticos na produção animal tem sido questionado, principalmente em relação à resistência bacteriana e segurança alimentar (TEDESCHI et al., 2011). Nesse cenário, a busca por alternativas mais seguras aos aditivos químicos, como plantas e extratos vegetais, tem recebido atenção devido à sua capacidade de manipular a fermentação ruminal e o metabolismo animal para aumentar o desempenho animal e promover efeitos benéficos ao ambiente (HART et al., 2008). Dentre os compostos naturais comumente utilizados na nutrição de ruminantes, destacam-se os taninos condensados.

Os taninos condensados (TC) são complexos compostos de polifenóis, encontrados em leguminosas tropicais e outras plantas do tipo C3, que se ligam às proteínas, íons metálicos e polissacarídeos, como o amido, a celulose e hemicelulose (MUIR et al., 2009). Quando excedem 6% da MS na dieta, os TC são considerados fatores antinutricionais por reduzirem o consumo, a digestibilidade da fibra e o desempenho animal, todavia em doses adequadas (2 - 4% MS), esses compostos podem promover efeitos benéficos, principalmente no que se refere às emissões GEE pelos ruminantes (MARTIN et al., 2009). Os TC reduzem a fermentação da fibra no rúmen o que, consequentemente, reduz a formação de hidrogênio e acetato, além de inibirem o crescimento de microrganismos metanogênicos, reduzindo assim a produção de CH₄ entérico (BEAUCHEMIN et al., 2008; PATRA e SAXENA, 2011).

Estudos têm mostrado que o TC pode ser utilizado para minimizar o impacto ambiental da produção de ruminantes em virtude de melhorar a fermentação ruminal e mitigar as emissões de CH₄ (UGBOBU et al., 2019), dependendo principalmente do tipo, dose e fonte de TC adicionado à dieta (VERMA et al., 2021; ABOAGYE et al., 2019). Existem dois mecanismos de mitigação de CH₄ em ruminantes através da inclusão de TC: 1) indiretamente através da redução na fermentação ruminal da fibra, que diminui as formações de hidrogênio e acetato, e 2) diretamente através da inibição do crescimento de microrganismos metanogênicos (CARULLA et al., 2005; TAVENDALE et al., 2005).

Os grupos hidroxila fenólicos do TC podem se ligar a macromoléculas (proteínas, carboidratos estruturais e amido), tornando-os indisponíveis aos microrganismos ruminais, formando complexos insolúveis no rúmen (OLIVEIRA E BERCHIELLI, 2007). No caso das proteínas, o complexo reduz sua degradabilidade ruminal e, consequentemente, o crescimento microbiano, diminuindo a produção de CH₄ (TEDESCHI et al., 2011). De acordo com McAllister et al. (2005), a capacidade da TC de se ligar a carboidratos e proteínas depende da planta da qual é extraída e do peso molecular do TC, sendo maior quanto maior o peso molecular.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. **Beef Report: Perfil da Pecuária no Brasil**. 2022.

- ABOAGYE, I.A.; BEAUCHEMIN, K.A.. Potential of molecular weight and structure of tannins to reduce methane emissions from ruminants: a review. **Animals**, v.9, p. 856, 2019.
- ABOAGYE, I.A.; OBA, M.; CASTILLO, A.R.; KOENIG, K.M.; IWAASA, A.D.; BEAUCHEMIN, K.A. 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**, v. 96, n. 12, p. 5276-5286, 2018.
- ALENCAR, M.M. **Utilização de cruzamentos industriais na pecuária de corte tropical**. Embrapa Pecuária Sudeste - Capítulo em livro científico (ALICE), 2004.
- AMARAL, P.M.; MARIZ, L.D.S.; ZANETTI, D.; PRADOS, L.F.; MARCONDES, M.I.; SANTOS, S.A.; DETMANN, E.; FACIOLA, A.P.; VALADARES FILHO, S.C. Effect of dietary protein content on performance, feed efficiency and carcass traits of feedlot Nellore and Angus × Nellore cross cattle at different growth stages. **Journal of Agricultura Science**, v. 156, 2018.
- ARTMANN, T.A.; TOMA, H.; PINHEIRO, J.; ROMERO, J.; CARVALHO, A.; TOMA, C.M. Melhoramento genético de bovinos ½ sangue taurino x ½ sangue zebuino no Brasil. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 22, n. 1, p. 1-20, 2015.
- ASSIS, A.J.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C. Polpa de citrus em dietas de vacas em lactação. II- pH e amônia do rúmen. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000. Viçosa/MG. **Anais...** Viçosa: 2000. p. 472, 2000a.
- ASSIS, A.J.; CAMPOS, J.M.S.; VALADARES FILHO, S.C. Polpa de citrus em dietas de vacas em lactação. I- produção e composição do leite. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000. Viçosa/MG. **Anais...** Viçosa: 2000. p. 472, 2000b.
- AXE, D.E.; BOLSEN, K.K.; HARMON, D.L.; LEE, R.W.; MILLIKEN, G.A.; e AVERY, T.B. Effect of wheat and high-moisture sorghum grain fed singly and in combination on ruminal fermentation, solid and liquid flow, site and extent of digestion and feeding performance of cattle. **Journal of Animal Science**, v. 64, n. 3, p. 897-906, 1987.
- AZENHA, M.V. **Morfogênese e dinâmica do perfilhamento do capim-marandu submetido à alturas de pastejo em lotação contínua com e sem suplementação**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária -

- UNESP, 2010. 93p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, 2010.
- BACH, A.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M. D. Nitrogen metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. E9-E21, 2005.
- BALDISSERA, T.C.; PONTES, L.S.; GIOSTRI, A. F.; BARRO, R.S.; LUSTOSA, S.B.C.; DE MORAES, A.; DE FACCIO CARVALHO, P.C. Sward structure and relationship between canopy height and light interception for tropical C4 grasses growing under trees. **Crop and Pasture Science**, v. 67, n. 11, p. 1199-1207, 2016.
- BALSALOBRE, M.A.A.; CORSI, M.; SANTOS, P.M.; CÁRDENAS, R.R. Composição química e fracionamento do nitrogênio e dos carboidratos do capim-tanzânia irrigado sob três níveis de resíduo pós-pastejo. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.519-528, 2003.
- BAMPIDIS, V.A.; ROBINSON, P.H. Citrus by-products as ruminant feeds: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v.128, p.175-217, 2006.
- BARBERO, R.P.; MALHEIROS, E.B.; AGUILAR, N.M.; ROMANZINI, E.P.; FERRARI, A.C.; NAVE, R.L.G.; MULLINKS, J.T.; REIS, R.A. Supplementation level increasing dry matter intake of beef cattle grazing low herbage height. **Journal of Applied Animal Research**, v. 48, n. 1, p. 28-33, 2020.
- BARBERO, R.P.; MALHEIROS, E.B.; ARAÚJO, T.L.R.; NAVE, R.L.G.; MULLINIKS, J.T.; BERCHIELLI, T.T.; RUGGIERI, A.C.; REIS, R.A. Combining Marandu grass grazing height and supplementation level to optimize growth and productivity of yearling bulls. **Animal Feed Science and Technology**, v. 209, p. 110-118, 2015.
- BARNABÉ, M. C.; ROSA, B.; LOPES, E.L.; ROCHA, G. P.; FREITAS, K. R.; PINHEIRO, E.P. Produção e composição químico-bromatológica da *Brachiaria brizantha* CV. marandu adubada com dejetos líquidos de suínos. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.3, p. 435-446, 2007.
- BEAUCHEMIN, K.A.; KREUZER, M.; O'MARA, F.; MCALLISTER, T.A. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v.48, p.21–27, 2008.
- BEEVER, D. E.; SIDDONS, R. C. **Digestion and metabolism in the grazing ruminant**. In: *Proceedings of 6th International Symposium on Ruminant Physiology*, Banff (Canada), 10-14 Sep 1984. Prentice-Hall, 1986.

- BELIBASAKIS, N.G.; TSIRGOGIANNI, D. Effects of dried citrus pulp on milk yield, milk composition and blood components of dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.60, p.87-92, 1996.
- BELYEA, R.L.; STEEVENS, B.J.; RESTREPO, R.J.; CLUBB, A.P. Variation in composition of by-product feeds. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 09, p. 2339-2345, 1989.
- BHATTACHARYA, A.N.; HARB, M. Dried citrus pulp as a grain replacement for awasi lambs. **Journal of Animal Science**, v. 36, n. 6, p. 1175-1180, 1973.
- BODDEY, R. M.; MACEDO, R.; TARRÉ, R.M.; FERREIRA, E.; OLIVEIRA, O. C. de; REZENDE, C. de P.; CANTARUTTI, R. B.; PEREIRA, J. M.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. Nitrogen cycling in Brachiaria pastures: The key to understanding the process of pasture decline. **Agriculture, Ecosystems e Environment**, v. 103, n.2, p. 389-403, 2004.
- BORGES, B.M.M.N.; BORDONAL, R.O; SILVEIRA, M.L.; COUTINHO, E.L.M. Short-term impacts of high levels of nitrogen fertilization on soil carbon dynamics in a tropical pasture. **Catena**, v. 174, p. 413-416, 2019.
- BRITO, R.M.; SAMPAIO, A.A.M.; FERNANDES, A.R.M.; RESENDE, K.T.; HENRIQUE, W.; TULLIO, R.R. Desempenho de bezerros em pastagem de capim-marandu recebendo suplementação com concentrados balanceados para diferentes níveis de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 9, p. 1641-1649, 2008.
- BRUNO FILHO, J.R.; BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P. Digestibilidade da polpa cítrica peletizada na alimentação de bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, Viçosa/MG. **Anais...Viçosa**: 2000. p. 400, 2000.
- CABRAL, L.D.S.; VALADARES FILHO, S.D.C.; DETMANN, E.; ZERVOUDAKIS, J.T.; SOUZA, A.L.D.; e VELOSO, R.G. Microbial efficiency and ruminal parameters in cattle fed diets based on tropical forage. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 5, p. 919-925, 2008.
- CANTON, J.S.; DHUYVETTER, D.V. Influence of energy supplementation on grazing ruminants: requirements and responses. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 2, p. 533-542, 1997.
- CARDOSO, A. S.; A. BERNDT, A.; LEYTEM, B.J.R.; ALVES, I.D.N.; DE CARVALHO, L.H.; DE BARROS SOARES, S.; URQUIAGA; BODDEY, R.M. Impact of the

- intensification of beef production in Brazil on greenhouse gas emissions and land use. **Agricultural Systems**, v.143, p. 86-92, 2016.
- CARDOSO, A.S.; BARBERO, R.P.; ROMANZINI, E.P.; TEOBALDO, R.W.; ONGARATTO, F.; FERNANDES, M.H.M.R.; RUGGIERI, A.C.; REIS, R.A. Intensification: A key strategy to achieve great animal and environmental beef cattle production sustainability in *Brachiaria* grasslands. **Sustainability**, v. 12, n. 16, p. 6656, 2020.
- CARULLA, J.E.; KREUZER, M.; MACHMÜLLER, A.; HESS, H.D. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 56(9), p. 961-970, 2005.
- CARVALHO, P.C.F.; TRINDADE, J.K.; MACARI, S.; FISCHER, V.; POLI, C.E.E.C.; LANG, C.R. Consumo de forragens por bovinos em pastejo. In: PEDREIRA, C. G.S.; MOURA, J.C. de; SILVA, S.C. da; FARIA, V.P.de. (Eds.). SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 24. 2007. **Anais...** Piracicaba, p.177-217. 2007.
- CASAGRANDE, D.R.; RUGGIERI, A.C.; MORETTI, M.H.; BERCHIELLI, T.T.; VIEIRA, B.R.; ROTH, A.P.T.P.; REIS, R.A. Sward canopy structure and performance of beef heifers under supplementation in *Brachiaria brizantha* cv. Marandu pastures maintained with three grazing intensities in a continuous stocking system. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.10, p.2074-2082, 2011.
- CERVIERI, R. C.; ARRIGONI, M. B.; OLIVEIRA, H. N.; SILVEIRA, A. C.; CHARDULO, L. A. L.; COSTA, C.; MARTINS, C. L. Desempenho e Características de Carcaça de Bezerros Confinados Recebendo Dietas com Diferentes Degradabilidades da Fração Protéica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 1590–1599, 2001.
- CHAMBERLAIN, D.G.; ROBERTSON, S.; CHOUNG, J. Sugars versus starch as supplements to grass silage: effects on ruminal fermentation and the supply of microbial protein to the small intestine, estimated from the urinary excretion of purine derivatives, in sheep. **Science of Food and Agriculture**, v. 63, n. 2, p. 189-194, 1993.
- COSTA, N.L.; TOWNSEND, C.R.; MAGALHÃES, J.A.; PEREIRA, R.G.A. **Manejo de pastagens de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em Rondônia**. Rondônia: CPAFRO EMBRAPA, 2p., 2001 (Relatório Técnico, 33).

- CULLEN, A.J.; HARMON, D.L.; NAGARAJA, T.G. In vitro fermentation of sugars, grains and by-product feeds in relation to initiation of ruminal lactate production. **Journal of Dairy Science**, v. 69, p. 2616-2623, 1986.
- DA SILVA, S.C.; CARVALHO, P.D.F. **Foraging behaviour and herbage intake in the favourable tropics/sub-tropics**. Grassland: a global resource. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, p. 81-95, 2005.
- DALEY, C.A.; ABBOTT, A.; DOYLE, P.S.; NADER, G.A.; LARSON, S. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. **Nutrition Journal**, v. 9, n. 1, p. 1-12, 2010.
- DALLANTONIA, Erick Escobar. Impacto ambiental de sistemas produtivos intensificados sobre o crescimento e qualidade da carne de tourinhos. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária - UNESP, 2020, 101p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, 2020.
- DE JESUS, F.L.F.; SANCHES, A.C.; DE SOUZA, D.P.; MENDONÇA, F.C.; GOMES, E.P.; SANTOS, R.C.; DA SILVA, J.L.B. Seasonality of biomass production of irrigated Mombaça 'Guinea grass'. Acta Agriculturae Scandinavica, **Soil e Plant Science**, p. 1-9, 2021.
- DELEVATTI, L.M.; CARDOSO, A.S.; BARBERO, R.P.; LEITE, R.G.; ROMANZINI, E.P.; RUGGIERI, A.C.; REIS, R.A. Effect of nitrogen application rate on yield, forage quality, and animal performance in a tropical pasture. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2019b.
- DELEVATTI, L.M.; ROMANZINI, E.P.; KOSCHECK, J.F.W.; ARAUJO, T.L.R.; RENESTO, D.M.; FERRARI, A.C.; BARBERO, R.P.; MULLINIKS, J.T.; REIS, R.A. Forage management intensification and supplementation strategy: Intake and metabolic parameters on beef cattle production. **Animal Feed Science and Technology**, v. 247, p. 74-82, 2019a.
- DETMANN, E.; VALENTE, É. E.; BATISTA, E.D.; HUHTANEN, P. An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livestock Science**, v. 162, p. 141-153, 2014.
- DEWHURST, R.J.; DAVIES, D.R.; MERRY, R.J. Microbial protein supply from the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v. 85, p. 1-21, 2000.
- DIXON, R.M.; STOCKDALE, C.R. Associative effects between forages and grains: consequences for feed utilization. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 50, n. 5, p. 757-774, 1999.

- DUBEUX JR, J.C.B.; SOLLENBERGER, L.E.; MUIR, J.P.; TEDESCHI, L.O.; DOS SANTOS, M.V.; DA CUNHA, M.V.; DILORENZO, N. Sustainable intensification of livestock production on pastures. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 25, n. 3-4, 2017.
- ELER, J.P. **Teorias e métodos em melhoramento genético animal: bases do melhoramento genético animal**. USP: Pirassununga, p. 239, 2017.
- EPA - Environmental Protection Agency. Inventory of U.S. Greenhouse Gas Emissions and Sinks: 1990-2019. No. 430-P-21-005. Environmental Protection Agency, Washington, DC. 791p, 2021. Available at: <https://www3.epa.gov/climatechange/ghgemissions/usinventoryreport.html>. Accessed on: March 4, 2022.
- ESTEVES, S.N.; MANZANO, A.; NOVAES, N.J. Substituição da espiga de milho desintegrada com palha e sabugo pela polpa de citrus peletizada na engorda de bovinos Canchim. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 16, n. 6, p. 507-516, 1987.
- EUCLIDES, V.P.B.; COSTA, F.P.; EUCLIDES FILHO, K.; MONTAGNER, D.B.; FIGUEIREDO, G.R. Biological and economic performance of animal genetic groups under different diets. **Biosciense Journal**, v. 34, n. 6, 2018.
- EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; VALLE, C.B.D.; DIFANTE, G.D.S.; BARBOSA, R.A.; CACERE, E.R. Valor nutritivo da forragem e produção animal em pastagens de *Brachiaria brizantha*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 1, p. 98-106, 2009.
- FAÇANHA, D.A.E.; LEITE, J.H.G.M.; GUILHERMINO, M.M.; VASCONCELOS, A.M.; LACUESTA, C.O. Desempenho e respostas adaptativas de novilhos Angus x Nelore em clima tropical. **Revista Caatinga**, v. 28, p. 172-178, 2015.
- FERNANDES, T.A.; PRATES, E.R.; BARCELLOS, J.O.J.; COSTA, P.T.; FARIAS, G.D.; VAZ, R.Z.; SCHAFHÄUSER, J. Efeitos associativos: consequências da suplementação concentrada que afetam o rúmen e o desempenho de ruminantes. **Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 18, n. 10, p. 1-26, 2017.
- FONSECA, D.M.; MARTUSCELLO, J.A.; FARIA, D.J.G.. Adubação em gramíneas do gênero *Brachiaria*: mitos e realidades. In PEREIRA, O.G.; OBEID, J.A.; FONSECA, D.M.; NASCIMENTO JUNIOR, D. (Org). Simpósio sobre Manejo Estratégico da Pastagem. 3. Viçosa, 2006. **Anais...** Viçosa: Suprema Editora Ubá: v. 1, p. 153-182, 2006.

- FRANZOLIN, R.; FRANZOLIN, M.H.T. População protozoários ciliados e degradabilidade ruminal em búfalos e bovinos zebuínos sob dieta à base de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 1853-1861, 2000.
- GOÉS, R. H.T.B; LAMBERTUCCI, D.M; BRADES, K.C.S; ALVES, D.D. Suplementação protéica e energética para bovinos de corte em pastagens tropicais. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 11, n. 2, p. 129-197, 2008.
- GOÉS, R.H.D.T.; MANCIO, A.B.; LANA, R.D.P.; LEÃO, M.I.; ALVES, D.D.; e SILVA, A.T.S. Recria de novilhos mestiços em pastos de *Brachiaria brizantha*, com diferentes níveis de suplementação, na Região Amazônica: consumo e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa v. 34, n. 5, p. 1730-1739, 2005b.
- GOÉS, R.H.T.; ALVES, D.D.; MANCIO, A.B.; e ZERVOUDAKIS, J.T. Efeito Associativo na suplementação de bovinos a pasto. **Arquivo de Ciências Veterinária e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 7, n. 2, p. 169-169, 2004.
- GOMES, M.J.; HOVELL, F.D.; CHEN, X.B.; NENGOMASHA, E.M.; FIKREMARIAM, D. The effect of starch supplementation of straw on microbial protein supply in sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v. 49, p. 277-286, 1994.
- GRENET, E.; BESLE, J.M. **Microbes and fiber degradation**. In: JOUANY, J. P. Rumen microbial metabolism and ruminant digestion. Paris: INRA. 1991.
- GUERRA, G.L.; MIZUBUTI, I.Y.; DE AZAMBUJA RIBEIRO, E.L.; PRADO-CALIXTO, O.P.; DAS DORES FERREIRA DA SILVA, L.; PEREIRA, E.S.; MASSARO, F.L.; GUERRA, A.L.; FERNANDES, F.; HENZ, É.L. Supplementation of beef cattle grazing brachiariabrizantha during the dry and rainy seasons: performance and carcass ultrasound prediction. **Semina Ciências Agrárias**, v. 37, 2016.
- HART, K.J.; YÁÑEZ-RUIZ, D.R.; DUVAL, S.M.; McEWAN, N.R.; NEWBOLD, C.J. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, v.147, n.1-3, p.8-35, 2008.
- HERRERA-SALDANA, R.; GOMEZ-ALARCON, R.; TORABI, M.; HUBER, J.T. Influence of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis. **Journal of Dairy Science**, v.73, n.1, p.142-148, 1990.

- HODGSON, J.; BROOKES, I.M. **Nutrition of grazing animals**. In: White, J.; Hodgson, J (Eds). *Pasture and Crop Science*. Oxford University Press, Auckland, n.7. p. 117, 1999.
- HOFFMANN, A.; BERÇA, A.S.; CARDOSO, A.D.S.; FONSECA, N.V.B.; SILVA, M.L.C.; LEITE, R.G.; RUGGIERI, A.C.; REIS, R.A. Does the Effect of Replacing Cottonseed Meal with Dried Distiller's Grains on Nellore Bulls Finishing Phase Vary between Pasture and Feedlot?. **Animals**, v. 11, n. 1, p. 85, 2021b.
- HOFFMANN, A.; CARDOSO, A.S.; FONSECA, N.V.B.; ROMANZINI, E.P.; SINISCALCHI, D.; BERNDT, A.; RUGGIERI, A.C.; REIS, R.A. Effects of supplementation with corn distillers' dried grains on animal performance, nitrogen balance, and enteric CH₄ emissions of young Nellore bulls fed a high-tropical forage diet. **Animal**, p. 100155, 2021a.
- HOOVER, W.H.; STOKES, S.R. Balancing carbohydrates and protein for optimum rumen microbial yield. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3630-3644, 1991.
- HORN, G.W.; MCCOLLUN, F.T. Energy supplementation of grazing ruminants. In: JUDKINS, M (Ed.). **Proceedings** Grazing Livestock Nutrition Conference, Jackson, WY, p.125-136, 1987.
- HUHTANEN, P. The effects of intraruminal infusions of sucrose and xylose on the nitrogen and fibre digestion in the rumen of cattle receiving diets of grass silage and barley. **Agriculture and Food Science**, v.59, p.101-120, 1987.
- ÍTAVO, L.C.V.; SANTOS, G.T.; JOBIM, C.C.; VOLTOLINI, T.V.; FARIA, K.P.; FERREIRA, C.C.B. Composition and apparent digestibility of orange peel silage additives. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 5, p. 1485-1490, 2000.
- JOHNSON, C.R.; REILING, B.A.; MISLEVY, P.; HALL, M.B. Effects of nitrogen fertilization and harvest date on yield, digestibility, fiber, and protein fractions of tropical grasses. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 9, p. 2439-2448, 2001.
- JOSAHKIAN, L.A. Programa de melhoramento genético das raças zebuínas. Simpósio Nacional de Melhoramento Animal. **Anais.. SBMA**. Belo Horizonte. MG. v. 1, p.76-93, 2000.
- KOSCHECK, J.F.W.; ROMANZINI, E.P.; BARBERO, R. P.; DELEVATTI, L.M.; FERRARI, A.C.; MULLINIKS, J.T.; MOUSQUER C.J.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R.A. How do animal performance and methane emissions vary with forage management intensification and supplementation? **Animal Production Science**, p-1201–1209, 2020.

- KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos ruminantes**. 3 ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, 216p., 2011.
- LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; SAMPAIO, C.B.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; SOUZA, M.A.; OLIVEIRA, F.A. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 10, p. 2021-2030, 2009.
- LENG, R.A. Factors affecting the utilization of “poor-quality” forages by ruminants particularly under tropical conditions. **Nutrition Research Review**, v.3, p.277- 303, 1990.
- LIPPKE, H.; FORBES, T.D.A.; ELLIS, W.C. Effect of supplements on growth and forage intake by stocker steers grazing wheat pasture. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 6, p. 1625-1635, 2000.
- LOY, D.D.; LUNDY, E.L. **Nutritional properties and feeding value of corn and its coproducts**. In: Corn. AACC International Press, p. 633-659, 2019.
- MACHADO, L.A.Z.; LEMPP, B.; VALLE, C.B. **Principais espécies forrageiras utilizadas em pastagens para gado de corte**. In: PIRES, A.V (Ed.). Bovinocultura de corte. Piracicaba: FEALQ, v. 1, p.375-417, 2010.
- MALAFAIA, P.; CABRAL, L.D.S.; VIEIRA, R.A.M.; COSTA, R.M.; CARVALHO, C.D. Suplementação protéico-energética para bovinos criados em pastagens: Aspectos teóricos e principais resultados publicados no Brasil. **Livestock Research for Rural Development**, v. 15, n. 12, p. 33, 2003.
- MARTIN, C.; MORGAVI, D.P.; DOREAU, M. Methane mitigation in ruminants: from microbes to the farm scale. *Animal*, v.4, n.3, p.351-365, 2009.
- McALLISTER, T.A.; MARTINEZ, T.; BAE, H.D.; MUIR, A.D.; YANKE, L.J.; JONES, G.A. Characterization of condensed tannins purified from legume forages: chromophore production, protein precipitation, and inhibitory effects on cellulose digestion. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31(9), p. 2049-2068, 2005.
- McMANUS, C.; BARCELLOS, J.O.J.; FORMENTON, B.K.; HERMUCHE, P.M.; CARVALHO JR, O.A.D.; GUIMARÃES, R.; NETO, J. B. Dynamics of cattle production in Brazil. **PloS One**, v. 11, n. 1, p. e0147138, 2016.
- MEDEIROS, F.S.; PATINO, H.O.; SILVEIRA, A.L.F.; KNORR, M.; MALLMANN, G.M. Efeitos associativos da energia em dietas não limitantes em proteína degradável no rúmen. **Archivos de Zootecnia**, v. 57, n. 218, p. 187-194, 2008.

- MEDEIROS, SR de; ALMEIDA, R.; LANNA, D.P.D. Manejo da recria: eficiência do crescimento da desmama à terminação. **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, v. 1, p. 159-170, 2010.
- MEDICA, J.A.S.; REIS, N.S.; SANTOS, M.E.R. Caracterização morfológica em pastos de capim Marandu submetidos a frequências de desfolhação e níveis de adubação. **Ciência Animal Brasileira**, v. 18, 2017.
- MENEZES JR., M.P.; SANTOS, F.A.P.; GUIDI, M.T. Processamento do grão de milho e sua substituição parcial por polpa de citros sobre os itens ruminais e composição do leite de vacas holandesas. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., 2000, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2000.
- MERTENS, D.R. **Regulation of forage intake**. In: Forage quality, evaluation and utilization. FAHEY JR. (Ed) American Society of Agronomy: Madison. National Conference on Forage Quality, Evaluation and Utilization, p.450-493, 1994.
- MOE, P.W. **Associated effects of feedstuffs**. In: Pacific Northwest Animal Nutrition Conference, 1979.
- MOKOLOBATE, M.C.; THEUNISSEN, A.; SCHOLTZ, M.M.; NESER, F.W.C. Sustainable crossbreeding systems of beef cattle in the era of climate change. **South African Journal of Animal Science**, v. 44, n. 5, p. 8-11, 2014.
- MOTTET, A.; TEILLARD, F.; BOETTCHER, P.; DE' BESI, G.; BESBES, B. Review: domestic herbivores and food security: current contribution, trends and challenges for a sustainable development. **Animal**, v. 12, p. 188–198, 2018.
- MUIR, J.P.; TERRILL, T.; VALENCIA, E.; STUART, W.; JONES, P.D.; MOSJIDIS, J.; WOLFE, R. The wide range of condensed tannins in Caribbean Basin plants and their applicability to ruminant production systems. In: ANNUAL MEETING OF THE CARIBBEAN FOOD CROPS SOCIETY, 45., 2009, St. Kitts and Nevis. Proceedings of... St. Kitts and Nevi: Caribbean Food Crops Society, 2009. p.46-52.
- MULLER, M.; PRADO, I.N. **Metabolismo da pectina para produção de carne e leite em ruminantes**. In I. N. Prado (Ed.), Conceitos sobre a produção com qualidade de carne e leite (Vol. 1, pp. 115-146). Maringá, Paraná, Brasil: Eduem. 2004.
- NOCEK, J.E.; RUSSELL, J.B. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 2070-2107, 1988.

- NRC - National Research Council. **Nutrient Requirements of Beef Cattle** (7th rev. ed.). Washington, DC, USA: Natl. Acad. Press, 2000.
- NRC – NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of beef cattle** (8th rev. ed.) Washington, DC, USA: Natl. Acad. Press, 2016.
- NUNES, S.G.; BOOK, A. PENTEADO, M.I.O; GOMES, D.T. **Brachiaria brizantha cv. Marandu**. Campo Grande: EMBRAPA, CNPGC, 31p., 1985. (Documento, 21).
- OLIVEIRA, A.P.; CASAGRANDE, D.R.; BERTIPAGLIA, L.M.A.; BARBERO, R.P.; BERCHIELLI, T.T.; RUGGIERI, A.C.; REIS, R.A. Supplementation for beef cattle on Marandu grass pastures with different herbage allowances. **Animal Production Science**, v. 56, n. 1, p. 123-129, 2016.
- OLIVEIRA, S.G.; BERCHIELLI, T.T. Potencialidades da utilização de taninos na conservação de forragens e nutrição de ruminantes-revisão. **Archives of Veterinary Science**, p. 1-9, 2007.
- OLSON, K.C.; COCHRAN, R.C.; JONES, T.J.; VANZANT, E.S.; TITGEMEYER, E.C.; JOHNSON, D.E. Effects of ruminal administration of supplemental degradable intake protein and starch on utilization of low-quality warm-season grass hay beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 4, p. 1016-1025, 1999.
- OLUREMI, O.I.A.; OJIGHEN, V.O.; EJEMBI, E.H. The nutritive potentials of sweet orange (*Citrus sinensis*) rind in broiler production. **International Journal of Poultry Science**, v. 5, n. 7, p. 613-617, 2006.
- ØRSKOV, E.R. **Protein Nutrition in Ruminants**. 2nd Edition. Academic Press. New York, EUA. 1992.
- PÁSCOA, A.G. **Comportamento de bovinos de corte em resposta à disposição espacial de condicionadores de pastejo**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária - UNESP, 2009. 118p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, 2009.
- PATHAK, A.K. Various factors affecting microbial protein synthesis in the rumen. **Veterinary World**, v.1, n.6, p.186, 2008.
- PATRA, A.K.; SAXENA, J. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 91, n. 1, p. 24-37, 2011.
- PATTON, R.S. Complexities of soluble carbohydrate metabolism in ruminants examined. **Feedstuff**, v. 66, 1994.

- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. Suplementação animal em pasto: energética ou protéica? In: Simpósio sobre manejo estratégico da pastagem, 3, 2006, Viçosa. **Anais...** Viçosa, p.359-392, 2006.
- PAULINO, M.F.; FIGUEIREDO, D.D.; MORAES, E.H.B.K.; PORTO, M.O.; SALES, M.F.; ACEDO, T.S.; VALADARES FILHO, S.D.C. Suplementação de bovinos em pastagens: uma visão sistêmica. **Simpósio de produção de gado de corte**, v. 4, p. 93-144, 2004
- PEDREIRA, B.C.; PEDREIRA, C.G.S.; Da SILVA, S.C. Estrutura do dossel e acúmulo de forragem de *Brachiaria brizantha* cultivada Xaraés em resposta a estratégias de pastejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n.2, p. 281-287, 2007.
- PEREIRA, A.S.C.; BALDI, F.; SAINZ, R.D.; UTEMBERGUE, B.L.; CHIAIA, H.L.J.; MAGNABOSCO, C.U.; MANICARDI, F.R.; ARAUJO, F.R.C.; GUEDES, C.F.; MARGARIDO, R.C.; LEME, P.R. E SOBRAL, P.J.A. Growth performance, and carcass and meat quality traits in progeny of Poll Nellore, Angus and Brahman sires under tropical conditions. **Animal production science**, v. 55, n. 10, p. 1295-1302, 2015.
- PEREIRA, J.C.; GOMES, F.K.; OLIVEIRA, M.D.; LARA, M.A.; BERNARDES, T.F.; CASAGRANDE, D.R. Defoliation management affects morphogenetic and structural characteristics of mixed pastures of *brachiaria* grass and forage peanut. **African Journal of Range e Forage Science**, v. 34, n. 1, p. 13-19, 2017.
- PEYRAUD, J.L. The role of grassland-based production system for sustainable protein production. In Proceedings of the 54a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Foz do Iguaçu, Brazil, 24–28 July 2017.
- PINHEIRO, A.D.; DO PRADO, I.N.; ALCALDE, C.R.; ZEOULA, L.M.; DO NASCIMENTO, W.G.; TORII, M.S. Efeitos dos níveis de substituição do milho pela polpa de citrus peletizada sobre a digestibilidade aparente em bovinos mestiços confinados. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 22, p. 793-799, 2000.
- PIRES, W. **Manual de pastagem: formação, manejo e recuperação**. Viçosa: Ed. Aprenda Fácil, São Paulo. p.64-74, 2006.
- POPPI, D.P.; HUGHES, T.P.; L'HUILLIER, P.J. Intake of pasture by grazing ruminants. Livestock feeding on pasture. **Hamilton: New Zealand Society of Animal Production**, v. 7, p. 55-64, 1987.
- POPPI, D.P.; McLENNAN, S.R. Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **Journal of Animal Science**, v.73, p.278-290. 1995.

- POPPI, D.P.; QUIGLEY, S.P.; SILVA, T.A.C C.D.; MCLENNAN, S.R. Challenges of beef cattle production from tropical pastures. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 47, 2018.
- PORCIONATO, M.A.F.; BERCHIELLI, T.T.; FRANCO, G.L. Avaliação dos parâmetros ruminais da polpa cítrica peletizada. 1-Degradação da MS e FDN. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37, 2000. Viçosa/MG. **Anais...**Viçosa: 2000. p. 347, 2000.
- PRADO, I.N.; PRADO, R.M.; ROTTA, P.P.; VISENTAINER, J.V.; MOLETTA, J.L.; PEROTTO, D. Carcass characteristics and chemical composition of the Longissimus muscle of crossbred bulls (Bos taurus indicus vs Bos taurus taurus) finished in feedlot. **Journal of Animal Feed Science**, v. 17, p. 295-306, 2008.
- RAMALHO, T.R.A. **Suplementação protéica ou energética para bovinos recriados em pastagens tropicais**. 2006. 64p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal e pastagens) – Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz , Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.
- REIS, R.A.; BARBERO, R.P.; HOFFMAN, A. Impactos da qualidade da forragem em sistemas de produção de bovinos de corte. **Informe Agropecuário**, v. 37, n. 292, p. 36-53, 2016.
- REIS, R.A.; DA SILVA, S.C. **Consumo de forragens**. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Org.). *Nutrição de Ruminantes*. 1 ed. Jaboticabal: FUNEP, v. 1, p. 79-109, 2006.
- REIS, R.A.; RUGGIERI, A.C.; CASAGRANDE, D.R.; PÁSCOA, A.G. Suplementação da dieta de bovinos de corte como estratégia do manejo das pastagens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. SPE, p. 147-159, 2009.
- REIS, R.A.; SIQUEIRA, G.R.; CASAGRANDE, D.R. **Suplementação alimentar de bovinos em pastagem**. In: PIRES, A.V. *Bovinocultura de corte*. Piracicaba-SP. p. 219-253. 2010.
- REIS, R.R.; RUGGIERI, A.C.; OLIVEIRA, A.A.; AZENHA, M.V.; CASAGRANDE, D.R. Suplementação como estratégia de produção de carne de qualidade em pastagens tropicais. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, p. 642-655, 2012.
- RESTLE, J.; PACHECO, P. S.; PÁDUA, J.T.; ROCHA, M.G.; VAZ, R.Z.; EIFERT, E.D.C.; FREITAS, A.K.D. Eficiência biológica de vacas de dois grupos genéticos amamentando bezerros puros ou F1, mantidas em diferentes condições de alimentação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 6, 2004.

- REZENDE, A.V.; LIMA, J.F.; RABELO, C.H.S.; RABELO, F.H.S.; NOGUEIRA, D.A.; CARVALHO, M.; FARIA JR, C.N.A.; BARBOSA, L.A. Características morfofisiológicas da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em resposta à adubação fosfatada. **Agrarian**, v. 4, n. 14, p. 335-343, 2011.
- RODRÍGUEZ, R.; SOSA, A.; RODRÍGUEZ, Y. Microbial protein synthesis in rumen and its importance to ruminants. **Cuban Journal of Agricultural Science**, v.41, n.4, p.287-294, 2007.
- ROMANZINI, E.P.; BARBERO, R.P., REIS, R.A., HADLEY, D.; MALHEIROS, E.B. Economic evaluation from beef cattle production industry with intensification in Brazil's tropical pastures. **Tropical Animal Health and Production**, v. 52, p. 2659-2666, 2020.
- ROOKE, J.A; LEE, N.H.; ARMSTRONG, D.G. the effects of intraruminal infusions of urea, casein, glucose syrup and a mixture of glucose syrup and casein on nitrogen digestion in the rumen of cattle receiving grass silage diets. **British Journal of Nutrition**, v.57, p. 89-98, 1987.
- ROSA. A.N.; MARTINS, E.N.; MENEZES, G.R.O.; SILVA, L.O.C. **Melhoramento genético Aplicado em Gado de Corte**. Brasília: Embrapa. 2013. 258 p.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.; LOPES, D.C.; EUCLIDES, R.F. **Composição de alimentos e exigências nutricionais** (3 ed. Vol. 1). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2017.
- RUGGIERI, A.C.; CARDOSO, A.S.; ONGARATTO, F.; CASAGRANDE, D.R.; BARBERO, R.P.; BRITO, L.F.; AZENHA, M.V.; OLIVEIRA, A.A.; KOSCHECK, J.F.W.; REIS, R.A. Grazing Intensity Impacts on Herbage Mass, Sward Structure, Greenhouse Gas Emissions, and Animal Performance: Analysis of *Brachiaria* Pastureland. **Agronomy**, v. 10, n. 11, p. 1750, 2020.
- RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.G.; Van SOEST, P.J.; SNIFFEN, C.J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3551-3561, 1992.
- RUSSELL, J.B.; WALLACE, R.J. **Energy-yielding and energy-consuming reactions**. In: The rumen microbial ecosystem. Springer, Dordrecht, p. 246-282, 1997.
- SANTIAGO. A.A. **Os cruzamentos na pecuária bovina: raças taurinas. raças zebuínas. cruzamentos**. Campinas. SP : Instituto Campineiro de Ensino Agrícola. p.549, 1984.

- SANTOS, F.A.P., CORREIA, P.S., RAMALHO, T.R., COSTA, D.F.A. Sistemas intensivos de recria de bovinos com suplementação em pastagens e confinamento. In: Simpósio sobre Bovinocultura de Corte: Requisitos de qualidade na bovinocultura de corte. 6, Piracicaba, 2007. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, Piracicaba, p. 183-219, 2007.
- SANTOS, F.A.P.; CARMO, C.D.A.; BITTAR, C.M.M.; PIRES, A.V.; PEDROSO, A.M.; PEREIRA, E.M. Milho com diferentes graus de moagem em combinação com polpa cítrica peletizada ou casca de soja para vacas leiteiras no terço médio da lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.1183-1191, 2007.
- SANTOS, F.A.P.; PEREIRA, E.M.; PEDROSO, A.M. Suplementação energética de bovinos de corte em confinamento. In: SIMPÓSIO DE BOVINOCULTURA DE CORTE, 5., 2005, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2005.
- SANTOS, R. **Os cruzamentos na pecuária tropical: edição comemorativa dos 100 anos de pesquisas de cruzamentos no Brasil (1898 – 1998)**. Uberaba: Agropecuária Tropical. 1999.
- SCHAIBLY, G.E.; WING, J.M. Effect of roughage concentrate ratio on digestibility and rumen fermentation of corn silage-citrus pulp rations. **Journal of Animal Science**, v. 38, n. 3, p. 697-701, 1974.
- SILVEIRA, A.L.F.; PATIÑO, H.O.; MEDEIROS, F.S.; LANGWINSKI, D.; MALLMANN, G.M. Efeitos associativos da suplementação com energia e proteína degradável no rúmen. **Archivos de Zootecnia**, v. 57, n. 218, p. 180-186, 2008.
- SINCLAIR, K.D.; GARNSWORTHY, P.C.; MANN, G.E.; SINCLAIR, L.A. Reducing dietary protein in dairy cow diets: implications for nitrogen utilization, milk production, welfare and fertility. **Animal – A major new International Journal of Animal Bioscience**, 8:262–274, 2014.
- SINGH, M.; SHARMA, K.; DUTTA, N.; SINGH, P.; VERMA, A.K.; e MEHRA, U.R. Estimation of rumen microbial protein supply using urinary purine derivatives excretion in crossbred calves fed at different levels of feed intake. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.20, n.10, p.1567-1574, 2007.
- SMITH, S.B.; LUNT, D.K.; CHUNG, K.Y.; CHOI, C. B.; TUME, R.K.; ZEMBAYASHI, M. Adiposity, fatty acid composition, and delta-9 desaturase activity during growth in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 77, 2006.
- SOLLENBERGER, L.; COLEMAN, S.W.; VENDRAMINI, J.M.B. **A interação planta-herbívoros em pastagens**. In Forragicultura Ciência, Tecnologia E Gestão Dos

- Recursos Forrageiros, 1st ed.; Reis, R.A., Bernardes, T.F., Siqueira, G.R., Eds.; Gráfica Multipress: Jaboticabal, Brazil, v. 1, pp. 69–80, 2014.
- SOLLENBERGER, L.E.; NEWMAN, Y.C.; MACOON, B. Pasture Design and Grazing Management. **Forages: The Science of Grassland Agriculture**, v. 2, p. 803-814, 2020.
- STROBEL, H.J.; RUSSEL, J.B. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate limited cultures of mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 69, p. 2941-2953, 1986.
- TAVENDALE, M.H.; MEAGHER, L.P.; PACHECO, D.; WALKER, N.; ATTWOOD, G.T.; SIVAKUMARAN, S. 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**, v.123, p. 403-419, 2005.
- TEDESCHI, L.O.; CALLAWAY, T.R.; MUIR, J.P.; ANDERSON, R.C. Potential environmental benefits of feed additives and other strategies for ruminant production. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.40, p.291-309, 2011.
- TOHARMAT, T.; COWAN, R.T.; TERNOUTH, J.H.; MOSS, R.J. The milk production of dairy cattle grazing ryegrass-clover pasture and consuming fibrous supplements. **Australian Society of Animal Production**, v. 19, p. 122, 1992.
- TORRES GONZÁLES, A.M.; MORTON, C.M. Molecular and morphological phylogenetic analysis of *Brachiaria* and *Urochloa* (Poaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 37, p. 36-44, 2005.
- TRINDADE, J.K.D.; SILVA, S.C.D.; SOUZA JÚNIOR, S.J.D.; GIACOMINI, A.A.; ZEFERINO, C.V.; GUARDA, V.D.A.; CARVALHO, P.C.D.F. Composição morfológica da forragem consumida por bovinos de corte durante o rebaixamento do capim-marandu submetido a estratégias de pastejo rotativo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 6, p. 883-890, 2007.
- UGBOGU, E.A.; ELGHANDOUR, M.M.M.Y.; IKPEAZU, V.O.; BUENDÍA, G.R.; MOLINA, O.M.; ARUNSI, U.O.; EMMANUEL, O.; SALEM, A.Z.M. The potential impacts of dietary plant natural products on the sustainable mitigation of methane emission from livestock farming. **Journal of Cleaner Production**, v. 213, p. 915–925, 2019.

- VALADARES FILHO, S.; SILVA, F.A.S.; BENEDETI, P.D.B.; PAULINO, M.F.; CHIZZOTTI, M. L Nutrient requirements of beef cattle in tropical climates. **EAAP Scientific Series**, p. 142, 2019.
- VALLE, C.B.; MACEDO, M.C.M.; EUCLIDES, V.P.B.; JANK, L.; RESENDE, R.M.S. **Gênero Brachiaria**. In: FONSECA, D.M.; MARTUSCELLO, J.A. (Ed.) Plantas Forrageiras. Viçosa, MG: editora UFV, p. 30-77, 2010.
- VALLE, L.C.S.; VALERIO, J.R.; SOUZA, O.C.; FERNANDES, C.D.; CORRÊA, E.S. **Diagnóstico de morte de pastagens nas regiões Leste e Nordeste do Estado do Mato Grosso**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 13p., 2000.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Cornell University, 1994. 476p.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.
- VERMA, S.; TAUBE, F.; MALISCH, C.S. Examining the variables leading to apparent incongruity between antimethanogenic potential of tannins and their observed effects in ruminants - a review. **Sustainability**, v.13, p. 2743, 2021.
- VIEIRA, B.R.; AZENHA, M.V.; CASAGRANDE, D.R.; COSTA, D.F.A.; RUGGIERI, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; REIS, R.A. Ingestive behavior of supplemented Nellore heifers grazing palisadegrass pastures managed with different sward heights. **Journal of Animal Science**, v.88, n. 4, p. 696-704, 2017.
- WALLACE, R. J.; ONODERA, R.; COTTA, M. A. **Metabolism of nitrogen-containing compounds**. In: The rumen microbial ecosystem. Springer, Dordrecht, p. 283-328, 1997.
- WATANABE, P.H.; THOMAZ, M.C.; RUIZ, U.S.; SANTOS, V.M.; MASSON, G.C.; FRAGA, A.L.; SILVA, S.Z. Carcass characteristics and meat quality of heavy swine fed different citrus pulp levels. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 4, p. 921-929, 2010.
- WEBSTER, A.J.F.; KAYA, S.; DJOUVINOV, D.S.; KITCHERSIDE, M.A.; e GLEN, E.F. Purine excretion and estimated microbial protein yield in sheep fed diets differing in protein degradability. **Animal Feed Science and Technology**, v.105, n.1-4, p.123-134, 2003.

- YANG, W.Z.; BEAUCHEMIN, K.A.; RODE, L.M. Effects of particle size of alfalfa-based dairy cow diets on site and extent of digestion. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p.1958, 2002.
- YANG, W.Z; BEAUCHEMIN, K.A. Effects of physically effective fiber on digestion and milk production by dairy cows fed diets based on corn silage. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p.1090, 2005.
- ZHU, W-Y.; KINGSTON-SMITH, A.H.; DAVIES, D.R.; TRONCOSO, D.; MERRY, R.J.; PICHARD, G.; THOMAS, H.; THEODOROU, M.K. Proteases in the degradation of herbage proteins in the rumen of grazing cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 1- 8, 2000.

CAPÍTULO 2 - Effect of diurnal feeding times and sources of energy supplementation to optimize rearing of F1 Angus x Nellore young bulls¹

Andressa Scholz Berça^{1*}, Abmael da Silva Cardoso[†], Natália Vilas Boas Fonseca*, Dennis P. Poppi[‡], Luís Orlindo Tedeschi[§], Isabela Rita Coletti Micheletti*, Willi Rocha Meireles*, Ana Cláudia Ruggieri*, Ricardo Andrade Reis*

* Department of Animal Sciences, Sao Paulo State University, Jaboticabal, SP, Brazil, 14884-900.

†Range Cattle Research and Education Center, University of Florida, Ona, FL, USA, 33865

‡School of Agriculture and Food Sciences, The University of Queensland, Gatton, Australia, QLD 4343.

§Department of Animal Science, Texas A&M University, College Station, TX, United States, 77843-2471.

¹Corresponding author: Andressa Scholz Berça, Sao Paulo, SP, Brazil, 05086-000. E-mail: dessaberca@yahoo.com.br

¹ Este capítulo corresponde ao artigo científico publicado na revista Journal of Animal Production Science. doi: /10.1071/AN22075.

ABSTRACT

Context: Energy supplementation with highly fermentable carbohydrates can be a strategy to maximize the efficiency of nitrogen use (ENU) from high-nutritional value forages.

Aims: The study aimed to investigate the independent or associated effects of two diurnal feeding times (0900 or 1700 h) with two sources of energy supplementation (corn or citrus pulp) in the growing of F1 Angus x Nellore young bulls on palisade grass pastures and their implications on the forage chemical composition, nutrient intake and digestibility, ENU, microbial protein synthesis (MCP), animal performance and gain per area.

Methods: There were 36 bulls used as experimental animals, with initial body weight (BW) of 290 ± 5 kg, and 32 similar bulls were used in a put-and-take system to maintain sward characteristics. The experiment was conducted in a complete randomized

design with four treatments and three replications (paddocks). The treatments consisted of energy supplementation at 0.3% BW with corn or citrus pulp fed at 0900 or 1700 h for four periods of 28 days. For evaluation of ruminal and blood parameters, ENU, intake, and nutrient digestibility, eight ruminal cannulated $\frac{1}{2}$ Aberdeen Angus x $\frac{1}{2}$ Nellore young bulls were used, with 280 ± 7 kg of initial BW, distributed in a 4x4 double Latin square design, consisting of four periods and four treatments.

Key results: Supplementation at 0.3% of BW with corn or citrus pulp at 0900 h or 1700 h can reach up to 1.06 kg/d of young bulls reared on palisade grass pastures fertilized with 180 kg nitrogen/ha/year and managed at 25 cm of height. There were no effects on MCP or its efficiency.

Conclusions: The citrus pulp can be used as an alternative energy source to corn because it has the same potential for animal performance, ENU and MCP in tropical pastures with a high proportion of soluble protein and structural and non-fibrous carbohydrates with high dry matter digestibility.

Implications: Supplementing grazing beef cattle at 0.3% BW with corn or citrus pulp in the morning or afternoon is an efficient nutritional strategy to improve animal performance.

Keywords: animal performance, beef cattle, corn, citrus pulp, palisade grass, microbial protein, ruminal parameters, supplementation time.

INTRODUCTION

In intensive cattle production systems, pastures fertilized with high doses of nitrogen (N) have high amounts of soluble protein, making energy supplementation essential to capture excess N of forage and ensure the rumen balance between N and energy (Poppi and McLennan, 1995). The energy source and the supplementation time combined with the grazing behavior of animals may directly affect the efficiency of nutrients used from the forage and, consequently, the responses in production.

The high degradability of N compounds in intensively managed tropical pastures, which can reach 14-15% of crude protein (CP), and 40-50% of soluble protein (Oliveira et al., 2016; Delevatti et al., 2019; Hoffmann et al., 2021; Leite et al., 2021), associated with the high content of slow degradation structural carbohydrates of forage, can compromise the efficiency of nitrogen use (ENU) and microbial protein synthesis (Detmann et al., 2014). However, this condition generates excessive

ammonia (NH_3) losses in the urine, generating a protein limitation relative to energy for high weight gains (Poppi et al., 2018). This N loss represents economic inefficiency and can harm the environment through N losses in the form of volatilized NH_3 , nitrous oxide emission, and nitrate leaching (Aboagye et al., 2018; Cardoso et al., 2019).

In order to minimize this problem, energy supplementation with highly fermentable carbohydrates can be a strategy to maximize the ENU from high nutritional value forages and microbial protein synthesis (Costa et al., 2011; Barbero et al., 2015; Oliveira et al., 2016; Costa et al., 2019; Ferrari et al., 2021; Fonseca et al., 2022). The supply of metabolizable energy, combined with suitable amounts of rumen degradable protein (RDP) in the forage, can capture the excess of rumen N by providing fermentable substrate containing starch, pectin, sugars, or digestible fiber, depending on the energy source (Poppi and McLennan, 1995; Costa et al., 2011; Barbero et al., 2015). Consequently, there will be a better balance between the availability of energy and NH_3 in the rumen and, thus, greater animal performance (Poppi and McLennan, 1995; Barbero et al., 2015; Ferrari et al., 2021).

In this scenario, the citrus pulp has shown promising results in animal nutrition as an alternative to corn due to its positive effects on rumen fermentation (Ariza et al., 2001). As it is a byproduct of the orange juice industry and other citrus fruits, the citrus pulp is a less expensive ingredient and does not compete with humans as a food source, unlike corn (Mottet et al., 2018). It has been shown that the pectin promotes greater and faster capture of NH_3 from degradation, reducing ruminal ammonia nitrogen (N-NH_3), in addition to maximizing microbial protein synthesis when compared to the addition of starch from corn (Ariza et al., 2001; Costa et al., 2011; Oliveira et al., 2016). Moreover, ruminal fermentation of pectin leads to an increase in acetic acid production and does not affect the production of lactic and propionic acids, which is in contrast to starch fermentation that decreases the rumen pH due to lactic and propionic acid formations (Owens and Basalan, 2016; Van Soest, 1994). However, although citrus pulp and corn are readily available sources, further studies evaluating the associated and/or independent effects of the energy supplement source and times to grazing animals are needed to maximize microbial protein synthesis and performance.

Besides the type of energy substrate (Poppi et al., 1997), the responses to energy supplementation may occur due to the supplementation timing, coinciding with the end of the main grazing events during the day. Studies on ingestive behavior by

ruminants and specifically Nellore cattle show that the animals' longest period of grazing occurs during the afternoon, more specifically between 1400 h and 1700 h (Thomson et al., 1985; Páscoa, 2009; Casagrande et al., 2011). Thus, the supply of energy supplements in the late afternoon after the intense intake of forage with a high amount of soluble N can be an efficient strategy to optimize animal performance, since the excess of N might be partly assimilated by the energy substrate for MCP.

This research hypothesizes that energy supplementation, mainly citrus pulp supplied in the late afternoon, could optimize the use of forage with high CP and soluble N contents by capturing this N in the rumen or by independent effects of the carbohydrate being fermented. This could result in greater efficiency of MCP and, consequently, greater animal performance. Therefore, the objectives of this study were to investigate the independent or associated effects of two times of supplementation (0900 h or 1700 h) with two sources of energy supplementation (corn or citrus pulp) during the rearing of F1 Angus x Nellore young bulls on palisade grass pastures, and their implications on nutrient intake and digestibility, ENU and MCP, animal performance, and gain per area and stocking rate.

MATERIAL AND METHODS

The experiment was approved by the UNESP Council of Animal Experimentation and Animal Use, Campus Jaboticabal, under protocol 015234/19. The experiment was conducted at the Forage and Grasslands sector of the Sao Paulo State University "Julio de Mesquita Filho" (UNESP), in Jaboticabal, SP, Brazil (21°15'22"S latitude, 48°18'58" W longitude, and 595 m elevation). The soil of the experimental area is classified as Ferralsol (Embrapa, 2013). According to the Köppen system, the climate is Aw type (tropical, characterized by dry winters).

The experiment was conducted in the rainy season of 2019/2020, between December 2019 and April 2020, during the rearing phase of young bulls. Animals underwent a 15-day adaptation period to the experimental conditions and the diet and subsequent 112 days of experimental evaluation.

The meteorological data were measured daily through the UNESP/FCAV Agro-Meteorological Weather Station. Over the whole experimental period, the average temperature was 24.2 °C, with a minimum of 20.4 °C and a maximum of 30.9 °C, the average precipitation was 156.2 mm, and the insolation time was 203.0 h.

Experimental design

The experiment was conducted using a complete randomized design in a 2x2 factorial arrange, with four treatments and three replications (paddocks) per treatment. Treatments consisted of energy supplementation at 0.3% dry matter (DM) of body weight (BW) with corn or citrus pulp at 0900 or 1700 h. The evaluated supplements are described in Table 1 with respect to ingredients and chemical composition.

Animals and Pasture management

We used thirty-six ½ Aberdeen Angus x ½ Nellore young bulls (14 ± 2 -month-old) as experimental animals, with mean initial BW (IBW) of 290 ± 5 kg, and eight ½ Aberdeen Angus x ½ Nellore young bulls (14 ± 2 -month-old), cannulated in the rumen, with an IBW of 280 ± 7 kg, distributed in a double 4x4 Latin square design. In addition, 32 young bulls were also used as put-and-take animals to adjust the stocking rate and maintain 25 cm of pasture height, with the same genetic pattern and IBW of 256 ± 8 kg.

Before the beginning of the experimental period, all animals were weighed, identified with numbered ear tags, and endo and ectoparasites controlled using albendazole sulfoxide (Agebendazol 15%, 7.5 ml/head, Agener Uniao®, Sao Paulo, SP, Brazil) as a vermifuge and fluazuron pour-on (Acatak, 30 ml/head, Novartis®, Campo Grande, MS, Brazil) for cattle tick control. Experimental animals were distributed into the treatments based on average BW, and the adjustment of stocking rate per paddock was based on the canopy height. The experiment with experimental animals had a total duration of 112 days, divided into four periods of 28 days.

Cannulated animals were kept in the same paddocks as experimental animals during the experiment and received the same type and amount of supplement for each treatment (0.3% BW). Firstly, these animals underwent a 15-day adaptation period to the pastures and the supplement. The total experimental period for cannulated animals was 84 days, divided into four periods of 21 days. The first 15 days were destined for diet adaptation and the last six days were for collections of ruminal fluid, blood, urine, and feces. The eight cannulated animals were randomly divided into four pairs (2 cannulated/treatment), rotating in all treatments throughout the four experimental periods. These two animals were allocated in separate paddocks of the same treatment; therefore, within the three paddocks of each treatment, only two received cannulated bulls.

Experimental animals were used to evaluate animal performance, while cannulated animals were used to assess nutrient intake and digestibility, urinary, ruminal, and blood parameters.

The experimental pastures were palisade grass (*Urochloa brizantha* R. D. Webster cv. Marandu). The total experimental area was 13 hectares, of which 1 ha was reserve area and 12 ha for the evaluations of treatments and replications. The site was divided into 12 paddocks (3 paddocks/treatment), provided with an open trough with 40 linear cm per animal, and a water trough, with fresh, clear water. Each paddock allocated 3 experimental animals ($N = 9$ animals/treatment). The management corral is round and equipped with a cattle chute and a digital scale.

Maintenance fertilization of pastures was carried out before the animals' adaptation period and determined according to the soil analysis results, following the recommendation of Technical Bulletin 100 (Van Raij et al., 1997). Nitrogen fertilization of all paddocks was provided by ammonium nitrate (32% N), fractionated in 3 applications of 60 kg N/ha/year, totaling 180 kg N/ha/year (December 11th, 2019; January 31st, 2020; February 28th, 2020).

Pastures were managed under continuous stocking with a variable stocking rate, following the put-and-take technique (Mott and Lucas, 1952) to maintain 25 cm of height and at a grazing utilization efficiency of 50%. The stocking rate was adjusted using put-and-take animals. For this assay, the height/forage mass ratio (bulk density) was evaluated weekly to estimate the forage mass and adjust the stocking rate using the put-and-take animals by measuring 80 random points of each paddock with a graduated ruler (Barthram, 1985).

Previous studies showed that under these experimental conditions, 25 cm of height promotes 95% light interception, which allows achievement of maximum net forage accumulation, with high leaf production and low senescence, resulting in high-quality forage allowance that may increase animal performance (Araújo et al., 2021; Hoffmann et al., 2021a; Barbero et al., 2015).

Forage Mass and Morphological Composition of Pasture

To determine forage mass, forage allowance, and morphological composition, every 28 days, 80 points/ha of palisade grass height were randomly measured with a graduate ruler (Barthram, 1985). From the average height, three representative samples of grass were collected per paddock by cutting at 5 cm height from the soil,

all forage contained in a 0.25-m² metallic frame. Each forage sample was subdivided into two subsamples, one for determination of DM concentration and the other for determination of the morphological composition, fractionating them into leaf, stem + sheath, and dead material. After drying in an oven with forced air circulation at 55°C for 72 h, total DM and morphological components were obtained to estimate the total forage mass. The forage allowance (kg DM/kg BW) was calculated as forage mass divided by the animal stocking rate and multiplied by the percentage of leaves to determine the leaf allowance.

Forage mass, forage and leaf allowances, and morphological composition of pastures are presented in Table 2.

Chemical composition of the forage

To evaluate the chemical composition of forage, hand-plucked samples of each paddock were taken every 28 days by collecting the forage at average canopy height after closely observing the animal grazing behavior, avoiding animal's stress, in order to represent all forage consumed during the day (Sollenberger and Cherney, 1995). After drying in an oven with forced air circulation at 55°C for 72 hours to determine DM, samples were ground in a Willey mill with a 1 mm sieve and then submitted to chemical analysis, following the methodologies of AOAC (2012). Chemical components analyzed were as follows: total N (CP) by the Kjeldahl method; acid detergent fiber (ADF), and neutral detergent fiber (NDF) corrected for ash and protein (apNDF) by the ANKOM fiber analyzer method (ANKOM Technology, USA); lignin by the acid hydrolysis method; ash, and ether extract (EE) by the Goldfish method. The organic matter (OM), hemicellulose, and cellulose contents were calculated by the difference between previously determined fibrous components, following the Equations (1-3):

$$OM(\%) = 100 - \%ash \quad [1]$$

$$Hemicellulose(\%) = \%NDF - \%ADF \quad [2]$$

$$Cellulose(\%) = \%ADF - \%Lignin \quad [3]$$

The fractionation of N was determined following the Cornell system (Sniffen et al., 1992). Fraction A was obtained by analyzing the hand-plucked samples in trichloroacetic acid to extract soluble N (Detmann et al., 2012), and later calculated by the difference between the total N content and the non-protein nitrogen (NPN). The

B3 fraction was calculated by the difference between the neutral detergent-insoluble nitrogen (NDIN) and the acid detergent-insoluble nitrogen (ADIN) contents. Fraction C, in turn, was considered ADIN, described by Sniffen et al. (1992) and thoroughly discussed by Tedeschi and Fox (2020). Finally, Fraction B1 + B2 (true protein) was calculated as the difference between the total N and the other fractions ($B1 + B2 = \text{total N} - (A + B3 + C)$).

Forage carbohydrate fractions were obtained from equations (4, 5, 6) proposed by Sniffen et al. (1992), respectively, for total carbohydrates (TC), non-fibrous carbohydrates (NFC), and total digestible nutrients (TDN). The chemical composition, carbohydrate and protein fractions of forage are presented in Table 3.

$$TC (\%) = 100 - (\%CP + \%EE + \%ash) \quad [4]$$

$$NFC (\%) = 100 - (\%CP + \%EE + \%apNDF + \%ash) \quad [5]$$

$$TDN (\%) = CPad + NFCad + NDFd + 2.25 \times EEad \quad [6]$$

Where TC corresponds to total carbohydrates; CP, crude protein; EE, ether extract; NFC, non-fibrous carbohydrates; apNDF, neutral detergent fiber corrected to ash and protein; TDN, total digestible nutrients; ad. apparently digestible fractions, and “d” means digestible fractions.

Nutrients intake and Digestibility

Intake by animals was determined based on fecal production of cannulated bulls, using indigestible neutral detergent fiber (iNDF) as an internal marker and chromium oxide (Cr_2O_3) as an external marker, which is the standard used for investigative purposes in Brazil and approved by the local and national Ethics Committees on the Use of Animals.

For this assay, 10 g of Cr_2O_3 /animal/d were wrapped in paper and allocated directly in the rumen of each cannulated animal for 10 d at the same time, of which the first 7 d for adaptation and the last 3 d for feces collection (Hopper et al., 1978). The supply of Cr_2O_3 began on the eighth day of each cannulated experimental period, and collections started on the 15th d. Fecal collections were performed twice a day, according to the schedule: 1st day – 0700 h and 1900 h; 2nd day – 1100 h and 2300 h; 3rd day – 1500 h and 0300 h.

After collection, feces samples were dried in an oven with forced air circulation at 55°C for 72 h, weighed, and constituted a composited sample of 3 days of collection per animal and period.

Fecal recovery of Cr₂O₃ was determined following the methodology of Williams et al. (1962), and, from these data, fecal excretion (FE) was calculated through the equation proposed by Detmann et al. (2001) (Equation 7). Forage intake was calculated based on iNDF concentrations of forage and feces (Equation 8).

$$FE \left(\frac{kg}{d} \right) = \frac{Cr_2O_3 \text{ consumed } (g/d)}{Cr_2O_3 \text{ concentration } (g/kg \text{ DM})} \quad [7]$$

$$Forage \text{ intake } \left(\frac{kg \text{ DM}}{d} \right) = \frac{FE \left(\frac{kg}{d} \right) \times iNDF_{feces} (\%)}{iNDF_{forage} (\%)} \quad [8]$$

To estimate supplement intake of cannulated animals, titanium dioxide (TiO₂) was used as an external marker (Titgemeyer et al., 2001). Approximately 10 g TiO₂/animal/d were provided for 10 d, being properly homogenized to the supplement immediately before feeding the animals from the group supplement trough. Each paddock's total amount of TiO₂ was provided according to the number of grazing animals. The indicator concentration in individual animal feces was analyzed by atomic absorption spectrophotometry, and a standard curve was established with concentrations 0, 2, 4, 6, 8, and 10 (Myers et al., 2004). Individual animal supplement intake was calculated following Equation 9.

$$Supplement \text{ Intake } \left(\frac{kg}{d} \right) = \frac{FE \left(\frac{kg}{d} \right) \times TiO_2_{feces} (\%)}{TiO_2_{supplement} (\%)} \quad [9]$$

Nutrient digestibility was estimated through the quantification of the iNDF content. Samples of forage, feces, and supplements were individually placed in filter bags model F-57 from ANKOM brand and allocated in the rumen of cannulated animals for in situ incubation for 288 h (Norris et al., 2019). After removing the bags from the rumen, they were washed until completely clear, dried in a forced circulation oven at 55°C for 72 h, and then in a non-ventilated oven at 105°C for 45 minutes. In sequence, bags were subjected to extraction with neutral detergent in an ANKOM fiber analyzer, and the entire drying procedure was repeated to quantify iNDF, according to Detmann et al. (2001). Nutrient intake and digestibility by cannulated animals were calculated from these data, following Equations 10 and 11, respectively, considering the total intake of forage and supplement (diet).

$$TNI \left(\frac{kg}{d} \right) = \frac{FE \left(\frac{kg}{d} \right) \times iNDF_{feces} (\%)}{iNDF_{diet} (\%) \times NC_{diet} (\%)} \quad [10]$$

$$\text{Digestibility of nutrient (\%)} = \frac{\text{TNI} \left(\frac{\text{kg}}{\text{d}} \right) - \text{FE} \left(\frac{\text{kg}}{\text{d}} \right)}{\text{TNI} \left(\frac{\text{kg}}{\text{d}} \right)} \times 100 \quad [11]$$

Where TNI refers to total nutrient intake, FE to fecal excretion, and NC is the nutrient concentration of diet (forage + supplement).

Efficiency of N use and microbial protein synthesis

Spot samples of urine were collected from each cannulated animal simultaneously with fecal collections: first day at 0700 h and 1900 h, second day at 1100 h and 2300 h, and third day at 1500 h and 0300 h (Chizzotti et al., 2008; Silva Júnior et al., 2018). Composite samples were obtained from the 6 six collections for each animal per period.

Urine was immediately filtered, and 10 mL aliquots were diluted with 40 mL of 0.072 M sulfuric acid (H₂SO₄) to prevent bacterial degradation of purine derivatives (PD) and precipitation of uric acid. Samples were stored at -15°C until analysis.

Concentrations PD, such as uric acid (UA) and allantoin (ALLA), were determined using the commercial Analisa kits by enzymatic-colorimetric methodology (cat. 451/MS80022230065), and Young and Conway (1942), respectively.

The total excretion of PD was calculated by summing the amounts of ALLA and UA excreted in the urine, expressed in mmol/d. Absorbed purines (Pabs) were calculated from the excretion of PD, following Equation 12. Then, the MCP (g/d) was calculated as a function of Pabs, using Equation 13 (Detmann et al., 2014).

$$Pabs \left(\frac{\text{mmol}}{\text{d}} \right) = \frac{PD - (0.385 \times BW^{0.75})}{0.85} \quad [12]$$

$$MCP \left(\frac{\text{g}}{\text{d}} \right) = \left(\frac{70 \times Pabs}{0.93 \times 0.137 \times 1000} \right) \times 6.25 \quad [13]$$

The ENU was calculated following Equation 14, described by Detmann et al. (2014).

$$ENU = \frac{N \text{ balance} \left(\frac{\text{g}}{\text{d}} \right)}{N \text{ ingested} \left(\frac{\text{g}}{\text{d}} \right)} \quad [14]$$

Where 70 corresponds to the N concentration in the purines (mg N/mol); 0.137 to the ratio N purine:total N in the bacteria (Barbosa et al., 2011); and 0.85 to the digestibility of microbial purines. The N balance was calculated from the sum of the N excretions in the feces and the urine, subtracted from the N ingestion.

Another aliquot of concentrated urine was used to estimate the total N concentration by the Kjeldahl methodology (Fenner, 1965) and the urea concentration

through commercial Analisa kits by the colorimetric-enzymatic method (Cat. 427/MS80022230063). Creatinine concentration in the spot sample was also determined through commercial Analisa kits using the colorimetric method with alkaline picrate (Cat. 435/MS80022230066) and subsequently used to estimate the urinary volume. The daily creatinine excretion (CE) was calculated by the following Equation 15, proposed by Chizzotti et al. (2008):

$$CE \left(\frac{mg}{d} \right) = 37.88 \times BW^{0.9315} \quad [15]$$

The nitrogen excreted via urine was obtained by multiplying the urine volume by urinary N concentration (Chizzotti et al., 2008).

Ruminal parameters

To evaluate the pH, N-NH₃ and short-chain fatty acids (SCFA), ruminal fluid samples were collected from the cannulated animals every three alternate hours in the last two days of each experimental period (3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 and 24 h). The ruminal fluid was collected at the solid-liquid interface and immediately filtered in a triple layer of gauze for pH measurement with a digital pH analyzer, calibrated with pH 7.0 and 4.0 buffers.

One milliliter of sulfuric acid (1:1) was added to a 50-mL sample of ruminal fluid and stored at -20 °C for subsequent analysis of N-NH₃ using the Kjeldahl methodology (Fenner, 1965). Analysis of SCFA was performed using concentrated ruminal fluid samples, following Serafim et al. (2021) methodology on a Shimadzu high-performance liquid chromatography system (model Prominence) equipped with an ultraviolet detector model SPD-20 and programmed to operate at a wavelength of 210 nm. The internal standard for the HPLC was the crotonic acid. The ruminal fluid samples were centrifuged at 7000 rpm for 5 min and filtered through a 13 mm diameter nylon filter (0.22 µm pore size). The injection volume was 20 µL. The quantified SCFAs were formic, lactic, acetic, propionic, butyric, isovaleric, and valeric acids.

Animal performance

To determine the ADG of experimental animals, weighing was performed at the beginning (IBW), after the adaptation period, and the end (final body weight, FBW) of the total experimental period, after a 14-h feed and water fasting. The ADG was calculated by dividing the difference between FBW and IBW by the number of days

(112 d). In addition, every 28 d after the adaptation period, we conducted an intermediate weighing, with no previous fasting, to adjust the stocking rate, grazing height, and supplement quantity.

The days of the occupation of the put-and-take animals in each paddock were recorded for further calculation of stocking rate and gain per area. The gain per area was calculated according to the experimental ADG and the number of putandtake animals and experimental animals of each paddock during the evaluation period (Mott and Lucas, 1952). The stocking rate in animal units (AU) per hectare (450 kg BW/ha), forage, and leaf allowances were determined from the total body weight of the animals in each paddock in each period.

Total gas production and in vitro dry matter degradability

The in vitro dry matter degradability (IVDMD) and total gas production trials were conducted at Premix Company Research Center Laboratory, located in Patrocinio Paulista – SP, Brazil.

The analysis was carried out on samples of hand-plucked forage, supplement and composite samples of forage + supplement in the real proportion of animal DM intake (88% and 12%, respectively), following the methodology of Bueno et al. (2005, 2008). For this assay, 1 g of the substrate (forage and/or supplement samples) was weighed and incubated in previously weighed and identified glass bottles. The composite sample substrate was formulated by mixing 0.88 g (DM) of forage and 0.12 g (DM) of supplement (corn or citrus pulp).

In addition to the substrate, 90 ml of aqueous culture media were added to each bottle, consisting of a solution of micro-minerals, macro-minerals, buffer solution, resazurin solution, medium B and distilled water. After inserting the culture medium, 10 mL of ruminal fluid was added to each bottle, which was collected on the day of incubation from two cannulated bulls, immediately capped, homogenized, and incubated in a forced air circulation oven at 39°C with constant movement and shaker type. Those animals were kept in Marandu grass pastures and adapted to a 0.3% BW energy supplement (810 g/kg TDN, 95 g/kg CP), and the average BW was 310 ± 7 kg.

The IVDMD was determined through the recovery of 3 bottles of the non-degraded fraction of each treatment, using filtration of the residue in a glass crucible previously prepared with glass wool (Bueno et al., 2005; 2008).

For forage samples incubation, the IVDMD was measured at 7 different time points: 0, 3, 6, 12, 24, 48, and 72 h after incubation. The treatments were marandu grass pastures where animals were supplement with corn at 0900 h, citrus pulp at 0900 h, corn at 1700 h, and citrus pulp at 1700 h ($n = 4$). We used two forage samples/treatment, and the IVDMD was evaluated by recovering 2 bottles of the non-degraded fraction of each treatment at each time point, totaling 14 bottles/treatment.

For supplement and forage + supplement incubations, the IVDMD was measured at 6 different time points: 0, 3, 6, 12, 24, and 48 h after incubation. For supplements only, the treatments were corn or citrus pulp ($n = 2$), and we used three forage samples/treatment, so the IVDMD was evaluated through the recovery of 3 bottles of the non-degraded fraction of each treatment at each timepoint totaling 18 bottles/treatment.

For the forage + supplement incubation, the treatments were marandu grass + corn or marandu grass + citrus pulp ($n = 2$), and 4 samples/treatments were used, so the IVDMD was evaluated through the recovery of 4 bottles of the non-degraded fraction of each treatment in each timepoint, totaling 24 bottles/treatment.

The potential degradability (DP) was calculated following the equation of Orskov and McDonald (1979) (Equations 16 and 17).

$$DP = A + B (1 - e^{-CT}) \quad [16]$$

Where DP is the potential degradability (%) in incubation time T; A is the fraction of feed that degrades instantly; B is the fraction insoluble in water, but potentially degradable in the rumen; C is a constant rate of degradation of fraction B.

The effective degradability (DE) of feed, allowing for rate of passage, was calculated by the equation below.

$$DE = A + \left[\frac{B \times C}{C + kd} \right] \times (1 - e^{-(C+kd)T}) \quad [17]$$

Where DE is the effective degradability (%); kd is the degradation rate, estimated by regression analysis.

Total gas production was measured on all remaining bottles throughout the timepoints before recovering the bottles to determine IVDMD, using a transducer and a data logger, the total gas volume was determined in psi and later converted to mL. For forage samples, measurements were taken on all bottles at times 0, 6, 12, 18, 24, 32, 40, 48, 60, and 72 h after incubation. For supplement and forage + supplement

samples, gas production was measured at times 0, 3, 6, 12, 24, 32, 40, and 48 h after incubation.

Statistical analysis

Data were analyzed for the homoscedasticity and normality of the residues, using the Box-Cox and Cramer-von Mises tests, respectively, using the Nortest package of the R program (Team, 2018). For animal performance evaluation, the paddock was assumed as the experimental unit (three paddocks/treatment), considering the mean composed of three animals in each paddock fed the same supplement and forage. The IBW was added as a covariate on the FBW and ADG, and the interactions between the main factors and the IBW were removed if not significant. The ANOVA was conducted using a complete randomized design procedure, in a 2x2 factorial arrange, using the Nortest package of the R program (A x B; Factor A – 2 energy supplementation sources: corn and citrus pulp; Factor B – 2 supplementation times: 0900 h and 1700 h). Treatments were considered fixed effects, while paddocks and periods were random effects.

For variables including nutrient intake and digestibility, ENU, urine, ruminal, and blood parameters, we considered cannulated animals and periods as experimental units (2 cannulated animals/treatment). ANOVA was conducted in a double 4x4 Latin square design, with repeated measures over time (*lme*), considering 4 experimental periods, to assess collection times (h), using the Agricolae package of the R program (Team, 2018). Latin square, the animal within a square, and collection times were considered fixed effects. The period was considered random effects. The best covariance structure used for repeated-measures analyses was chosen as the one that achieved the lowest corrected Akaike and Bayesian information significant effects for treatment were declared at $P < 0.05$. When a significant effect was found, the means of the four treatments were compared by the Tukey-HSD test at 5% probability. When the period was significant, orthogonal polynomial contrasts were used to identify the effect of periods.

RESULTS

Total intake and digestibility of nutrients

The sources and times of energy supplementation did not interfere with the intake and digestibility of nutrients from forage and supplement ($P > 0.05$) (Table 4).

However, the ratio g CP/kg DOM was lower in animals that received corn compared to the citrus pulp both times ($P = 0.002$), with no difference among times for the same source ($P > 0.05$), both for corn and citrus pulp, neither between the sources at 0900 h ($P > 0.05$).

Efficiency of N use and microbial protein synthesis

The intake, excretion, retention of N, as well as the excretion of urea by cannulated animals were similar among treatments ($P > 0.05$) (Table 5). Besides, the microbial protein synthesis, the g MCP/kg DOM ratio, and the ENU by the animals were not affected by the sources and/or time of energy supplementation ($P > 0.05$).

Ruminal parameters

The N-NH₃ of the animals supplemented with corn was higher than citrus pulp ($P = 0.005$), with means of 14.92 and 13.03 mg/dL, respectively, and the supplementation at 0900 h promoted lower N-NH₃ compared to 1700 h ($P = 0.052$). During collection times, N-NH₃ values differed both between sources and between supplementation times ($P < 0.001$), however there were no interactions between sources, supplementation times, and collection times ($P = 0.712$) (Table 6). The peak of N-NH₃ occurred around 1800 h in animals supplemented with corn at 0900 h and 1700 h and with citrus pulp at 0900 h.

The pH of animals supplemented with citrus pulp was, on average, higher than those supplemented with corn ($P = 0.021$), but similar between animals supplemented at 0900 h and 1700 h ($P = 0.969$) (Table 6). There was a difference between collection times ($P < 0.001$), however, there was no interaction between sources and/or supplementation times and collection times ($P > 0.05$).

In general, animals supplemented with corn in the morning kept the pH consistently lower than those receiving citrus pulp at 0900 h. In addition, young bulls supplemented with citrus pulp at 1700 h had a pH range higher than those that received corn at 1700 h. The lowest pH value occurred around 2100 h in all supplementation strategies, and animals supplemented in the afternoon had a ruminal pH peak at midday.

Among the SCFAs evaluated, only formic and valeric acids showed differences between sources of energy supplementation ($P = 0.005$ and $P = 0.042$, respectively), being lower when the animals were supplemented with corn in relation to the citrus

pulp (Table 6). Furthermore, there was an interaction between energy sources and collection times in the concentration of formic acid ($P = 0.042$). The concentrations of lactic, propionic, butyric, and isovaleric acids differed between collection times ($P < 0.05$). There was no difference in SCFAs concentrations between supplementation times ($P > 0.05$).

Dry matter in vitro degradability

Fraction A of citrus pulp isolated or associated with forage was higher than that of corn, isolated or associated, unlike Fraction B, which was lower in citrus pulp in both cases (Fig. 1). On the other hand, the indigestible and unavailable Fraction (C) of citrus pulp isolated was higher than corn, but when associated with forage, both ingredients presented the same amount of Fraction C. The degradation rate (kd) of citrus pulp separated or associated with forage was higher than corn in both situations. The potential degradability of isolated corn was higher than citrus pulp; however, when associated with forage, the forage + corn mixture had lower potential degradability than the forage + citrus pulp mixture. Estimates of degradability at 2, 5, and 8 hours revealed that both citrus pulp and the combination forage + citrus pulp had greater potential for DM degradation than corn separated or combined with pasture.

When comparing the in vitro degradability profile of corn and citrus pulp isolated, we observed that up to 24 hours after incubation, the citrus pulp was greater than corn ($P < 0.0001$) and, consequently, presented higher gas production ($P = 0.0002$) (Fig. 2). However, between 48 and 72 h of incubation, DM degradation of corn was greater than citrus pulp ($P = 0.0001$), as well as its gas production ($P < 0.0001$).

By associating forage with the supplement in the actual proportions of animal intake (88% of forage and 12% of supplement), we found that in the first three hours of incubation, the DM degradation was the same between forage + corn and forage + citrus pulp ($P = 0.499$), while between 6 h and 24 h, the association of pasture with citrus pulp showed greater degradation ($P = 0.001$) (Fig. 2). At 48 h after incubation, however, both associations showed the same degradation ($P = 0.785$). At the same time, gas production remained similar in the first three h ($P = 0.227$), being higher in the forage + citrus pulp association between 6 h and 12 h ($P = 0.014$) and between 24 h and 48 h it was similar between forage + corn and forage + citrus pulp ($P = 0.244$).

Animal performance and gain per area

The F1 Angus x Nellore young bulls supplemented with corn or citrus pulp at 0900 h or 1700h had similar IBW, FBW, and ADG ($P > 0.05$) (Table 7). The gain per area and stocking rate were also similar between sources and times of energy supplementation ($P > 0.05$).

DISCUSSION

Animal performance and gain per area

The average gain per area in this study, 743.3 kg BW/ha, is higher than the average reported by Ruggieri et al. (2020), 525 kg BW/ha, when evaluating cattle reared in palisade grass pastures fertilized with N and managed at 25 cm of height, and supplemented with mineral salt *ad libitum*. Furthermore, the results of this study are above those recorded by Casagrande et al. (2011), of 621 kg BW/ha, for Nellore cattle reared in palisade grass pastures managed at 25 cm and supplemented at 0.3% with protein-energy based on citrus pulp and cottonseed meal. Petty et al. (1998) recorded values even higher (1570-2110 kg BW/ha), with a pangola grass-leucaena based pasture with or without supplements of corn.

It was expected that 0.3% BW supplementation would not interfere with the stocking rate and, consequently, in the forage mass because the effect of replacing forage with supplement (substitution) and the consequent increase in the carrying capacity of pastures under supplementation level occurs from 0.8% BW (Euclides et al., 2001). Additionally, under the adopted management criteria, even if the animals stopped consuming forage to consume the supplement, other animals would be added into the system to maintain the proposed pasture height and, thus, the canopy structure. The average stocking rate in this study, 4.6 AU/ha, is 4.3 times higher than the national livestock average of 1.06 AU/ha (ABIEC, 2020), emphasizing that fertilization with high N doses and better management of sward structure when using the put-and-take technique can increase the stocking rate.

The ADG of bulls ranged from 0.86 to 1.06 kg/d, and did not differ among treatments. Since the palisade grass pastures were equally fertilized with 180 kg N/ha/year and managed at 25 cm of height in a continuous stocking system and variable stocking rate, the pastures presented similar chemical and morphological composition. Additionally, even though supplements had different chemical compositions, the total nutrient intake by animals was similar among treatments. Consequently, there was no effect of treatments on ADG.

Hoffmann et al. (2021a) have shown that low levels (0.3% BW) of a corn-based supplement increases ADG by approximately 33% when compared to mineral salt *ad libitum*, which means were 0.83 kg/d and 1.10 kg/d, respectively. The ADG values recorded here are higher than these values and demonstrate what high-quality pastures and supplements can achieve, and citrus pulp appears to be a suitable replacement for corn as a supplement on these pasture types. Compared to other studies, the ADG obtained in this experiment is close to that recorded by Hoffmann et al. (2021a), at 1.1 kg/d, by Nellore bulls reared on palisade grass pastures managed at 25 cm and supplemented at 0.3% BW with concentrate based on cottonseed meal and/or DDG. Furthermore, in the same experimental area, Koscheck et al. (2020) found an average of 0.94 kg/d by Nellore bulls supplemented at 0.3% BW with energy and protein-based on citrus pulp, close to that study.

Considering the protein and energy requirements determined by BR-Corte (2016), under the experimental conditions of pasture and supplements provided, which generated an average intake of 0.98 kg CP/d and 4.10 kg TDN/d by forage, added to 0.10 kg CP/d and 0.87 kg TDN/d by the supplement, the predicted ADG for the animals would be 0.98 kg/d, which corresponds to the actual ADG of animals in the experiment, of 0.97 kg/d.

Our ADG results also corroborate with the National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (NASEM, 2016), which predicts an average ADG of 0.96 kg/d, considering an intake of 2.2% BW of a diet composed of 88% forage and 12% of energy supplement (corn or citrus pulp), with 61.6% of TDN that provided metabolizable energy around 9.33 MJ/kg of DM.

Total intake and digestibility of nutrients

Despite differences in the chemical composition of the supplements, the total intake of nutrients from forage and supplements was similar between the animals that received corn and citrus pulp. However, the g CP/kg DOM ratio was higher in the treatment of citrus pulp compared to corn in both supplementation times.

Poppi and McLennan (1995) suggested that the maximum efficiency in the microbial protein synthesis and transfer of ingested protein to the intestine is reached when amounts below 160 g CP/kg DOM are observed, while values above 210 g CP/kg DOM result in losses of net CP transfer from ingested CP to the passage of CP to the small intestine. In this study, however, it was expected that the g CP/kg DOM

ratio was high due to the high soluble protein fraction from pastures fertilized with high doses of N, which justified the adoption of energy supplementation as a way to capture excess N from the forage in the rumen by providing fermentable substrate containing starch or pectin, depending on the source.

Thus, considering forage and supplement intakes, the g CP/kg DOM ratio is above the proposed limit of 160 g CP/kg DOM in all treatments to obtain maximum use of forage nutrients and microbial protein synthesis. Supplementation with corn generated the lowest quotients compared to citrus pulp (197.8 and 183.4 g CP/kg DOM, respectively, to corn at 0900 h and corn at 1700h).

As digestibility is determined as a function of the difference between what was consumed through forage and supplement and excreted in the feces of animals using iNDF as an internal marker (Detmann et al., 2001), in this study, nutrient digestibility was similar in all treatments, mainly due to similarity in the intake of forage and supplement of grazing animals and iNDF content.

From a nutritional point of view, DMD exerts an important influence on the animals forage intake, so the higher the DMD, the greater the amount of DM that can be ingested, especially if the CP contents are above 7% (Van Soest, 1994) and if the ADF values are below 40%, as it is the component with the greatest influence on digestibility (Figueira et al., 2015). Thus, the digestibility values found in this study can be considered within the expected and adequate range not to decrease the animals' intake.

Digestibility and CP content was high for these pastures and total tract digestibility was also high for a tropical pasture supplemented at these low levels with fermentable energy sources. This is a consequence of pasture management and reinforces why pasture forage mass and structure and fertilization are important agronomic tools to present a high-quality pasture to grazing animals. Both energy supplement sources are high in digestibility and fermentable sources of starch or pectin. These values result in the high ADG recorded for a tropical pasture system.

Efficiency of N use and microbial protein synthesis

Since there were no differences in the total intake of DM and CP in the four supplementation strategies, the amount of N ingested by the animals was also similar between treatments, as well as the amount of N excreted, which was determined from the multiplication of concentration of N in the urine by the urinary volume of each

animal. Consequently, the retention of N by the animals was similar between treatments since it is primarily due to the excretion of N in the urine (Atkinson et al., 2010).

The ENU by ruminants indicates how much available N is being used by microorganisms and whole body metabolism, calculated by the difference between ingested and excreted N in feces and urine (N balance), divided by ingested N (Detmann et al., 2014). Since there was no difference in N excreted and N ingested, ENU was similar between treatments. ENU is also affected by the efficiency of absorbed amino acids, which is the function of the metabolizable protein/metabolizable energy ratio (Poppi, 1990).

The efficiency of MCP depends on the availability of fermentable carbohydrates and N in the rumen. The microbial growth is maximized when there is synchronism between the degradation of carbohydrates and protein in the rumen environment (NASEM, 2016). The absence of differences between sources and times of energy supplementation in MCP suggests that both corn and citrus pulp supplied in the morning or the afternoon have the same potential to increase the uptake of N in the rumen as a microbial protein to reduce the excretion of N in feces and urine. It is worth emphasizing the importance of well-managed tropical pastures on the efficiency of microbial synthesis due to the high content of soluble N of forage and high-quality fiber, in addition to the low content of iNDF.

In general, the citrus pulp can be an alternative energy source to corn without causing an increase in N excretions by the animal and, consequently, an increase in nitrous oxide production, nitrate leaching, and NH_3 emission volatilized, which can be harmful to the environment (Cardoso et al., 2016). In addition, citrus pulp is not directly consumed by humans as it is a byproduct of the agroindustry and is less expensive than corn, which makes its use advantageous.

Ruminal parameters

As expected, supplementation with citrus pulp showed lower concentrations of N- NH_3 during the day compared to supplementation with corn. These results corroborate other studies, which reported that citrus pulp could promote greater and faster capture of NH_3 for its degradation, reducing ruminal N- NH_3 and protein degradation (Costa et al., 2011; Almora et al., 2012; Oliveira et al., 2016). Results of our study and Almora et al. (2012) support the hypothesis on the effects of

synchronization of fermentable energy and N in the rumen in decreasing post-feeding concentrations of N-NH₃.

According to Detmann et al. (2014), minimum concentrations of 8 mg/dL of N-NH₃ in rumen fluid are ideal for ruminal microorganisms to degrade fiber from forage efficiently. In our study, all treatments presented concentrations of N-NH₃ above the minimum value for adequate rumen function and animal intake throughout the day.

The concentration of N-NH₃ in the rumen varies depending on the amount and rate of degradation of the protein source and uptake by microbes, and absorption across the rumen wall (Poirier et al., 2017). In this sense, the N-NH₃ peak obtained in the period between 1200 h and 1800 h coincides with the peak of animals grazing, observed by Páscoa (2009) and Casagrande et al. (2011) (Figure 3). Thomson et al. (1985) showed that the highest proportion of daily intake occurred in this period in grazing sheep. That is, the animals spent the afternoon consuming forage with a high amount of soluble N, the excess N of which was in part captured by the energy substrate from the supplement for microbial protein synthesis, mainly when citrus pulp was supplied, as it presented the lower N-NH₃ peaks when compared to corn.

Thus, supplementation with citrus pulp in the morning or the afternoon can maximize the use of N from high-nutritive value forage, as it reduces N-NH₃ concentrations in the rumen by promoting a greater capture of the forage N, which is usually in excess due to the fertilization.

The replacement of starch sources in the diet with sugars increases the ruminal pH (Chamberlain et al., 1993; Penner et al., 2009), and in the current study, supplement with a pectin source (citrus pulp) similarly maintained a higher rumen pH than corn.

The critical pH level of 6.2 was established as the minimum value to avoid the inhibition of cellulolytic bacteria and, thus, the reduction in forage cell wall degradation (Hoover, 1986). In our study, however, citrus pulp promoted an average pH of 6.2 throughout the day, while corn maintained an average pH of 6.05. The animals were not at risk of acidosis due to the low inclusion of starch in the diet and were above the critical range to cause animal disorders, that is, below 5.6 for more than 3 hours (Ghozo et al., 2005). The pH values found in this study were close to the means reported by Ferrari et al. (2019) and Delevatti et al. (2019a), of 6.3, by beef cattle reared on palisade grass pastures managed at 25 cm height and fed with corn-based supplement at 0.3% BW.

The intense forage intake in the afternoon contributed to the reduction in the ruminal pH, especially between 1800 h and 2100 h, when the lowest pH peak occurred (Figure 4), most likely due to an extensive fermentation and SCFA production in the rumen, which intensifies up to 6 h after ingestion (Owens and Goetsch, 1993). However, the pH values were not low enough to reduce NDF digestibility and degradability (Delevatti et al., 2019a).

The molar proportion of SCFA in the rumen may differ due to microbial species, microbial growth rates, substrate type and availability, level of DM intake and ruminal pH (Scharen et al., 2016). In this study, however, there was no effect of sources (starch or pectin) and times on the concentration of the main SCFA, with the average acetate:propionate:butyrate ratio being 63:21:16, close to that stipulated by Wanapat et al. (2014) for forage-based diets, from 65:25:10. The low level of supplement would not be expected to affect SCFA concentration (Van Soest et al., 1991).

Pectin fermentation increases acetate production and generally does not increase lactic and propionic acid production during fermentation, in addition to maintaining a higher rumen pH than starch fermentation, which increases propionate production (Owens and Basalan, 2016). There was no difference in the concentration of acetic and lactic acid between sources or supplementation timing. However, it was found that citrus pulp promoted a higher pH than corn throughout the day at both times. As Yang et al. (2004) reported, the lower pH of corn-supplemented bulls was due to the production of lactate after starch digestion.

The formic acid concentration was higher in animals that received citrus pulp than in corn. However, contrary to what is generally observed, the pH remained higher in this source throughout the day, and there was no influence of formic acid in the production of lactic acid, as reported by Ítavo et al. (2000). The citrus pulp provided a greater concentration of valeric acid compared to corn. Nevertheless, as it makes up a small proportion of the total SCFA produced, it usually does not generate critical information for studies since it is often not evaluated in routine diagnoses, which makes it of secondary importance in evaluating ruminal fermentation (Filípek and Dvorak, 2009).

Dry matter in vitro degradability

Experimental pastures had similar DM degradability profiles among treatments, considering their similarity in chemical and structural compositions. When evaluating

corn and citrus pulp separately, however, it was noted that ruminal parameters associated with the ingredients were different. The potential degradability, which does not consider the passage rate, was higher in corn compared to the citrus pulp when analyzed separately. This suggests that corn has a more degradable carbohydrate fraction in the rumen but may not affect microbial efficiency (Santos and Mendonça, 2006).

Pectin is about 95% degraded in the rumen, while ruminal starch degradation varies from 50 to 85% depending on the starch source and degree of processing (Santos and Mendonça 2006). In our study, similarly to the forage + citrus pulp, citrus pulp alone had greater effective degradability than corn, especially in the first 24 h after incubation. Such behavior was probably due to the readily fermentable status of pectin, as reported by Moreira et al. (2009), characterized as a structural carbohydrate with high and rapid rumen degradation (Van Soest et al., 1991).

In general, the total gas production (mL) of citrus pulp, isolated or associated with pasture, was greater than that of corn in both circumstances. As reported by Miron et al. (2001) and Tedeschi et al. (2009), gas production is directly related to the rate of ruminal fermentation, probably due to the higher NFC concentration that ferments faster than fiber. In this sense, despite being a fibrous carbohydrate, pectin has a fermentative behavior similar to NFC (Homem Júnior et al., 2017).

Supplementation at 0.3% BW with corn or citrus pulp at 0900 h or 1700 h can optimize the performance of F1 Angus x Nellore young bulls reared in palisade grass pastures fertilized with 180 kg N/ha/year and managed at 25 cm of height. The citrus pulp can be used as an alternative energy source to corn, and it has the same potential for animal performance, ENU, and microbial protein synthesis in tropical pastures with a high proportion of soluble protein. Because the citrus pulp is a byproduct of agroindustry and inedible for humans, it is less expensive than corn and does not show large price fluctuations throughout the year. The management of palisade grass pastures at 25 cm of height, with fertilization of 180 kg N/ha/year, grazing efficiency of 50%, and energy supplementation at 0.3% BW during the rainy season promotes high production and allowance of high-quality forage and allows high stocking rate and production per animal and per hectare, in addition to avoiding long-term degradation of pastures.

Data Availability Statement

The data that support this study will be shared upon reasonable request to the corresponding author.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Declaration of Funding

This work was supported by the São Paulo Research Foundation (FAPESP, grants n. 2019/25997-4; 2021/06521-9; 2020/08154-0; 2020/06679-9); and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq, grant 130983/2019-5).

REFERENCES

- ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes (2020) Beef Report: Perfil da Pecuária no Brasil.
- Aboagye, IA, Oba M, Castillo AR, Koenig KM, Iwaasa AD, and 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, 5279-5286.
- Almora EA, Huntington GB, Burns JC (2012) Effects of supplemental urea sources and feeding frequency on ruminal fermentation, fiber digestion, and nitrogen balance in beef steers. *Animal Feed Science Technology* 171, 136-145.
- AOAC (2012) AOAC official methods of analysis. 18th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Araújo TLDR, Silva WL, Berça AS, Cardoso AS, Barbero RP, Romanzini EP, Reis, RA (2021) Effects of replacing cottonseed meal with corn dried distillers' grain on ruminal parameters, performance, and enteric methane emissions in young nellore bulls reared in tropical pastures. *Animals*. 11.
- Ariza P, Bach A, Stern MD, Hall MB (2001) Effects of carbohydrates from citrus pulp and hominy feed on microbial fermentation in continuous culture. *Journal of Animal Science* 79, 2713-2718.

- Atkinson RL, Toone CD, Robinson TJ, Harmon DL, Ludden PA (2010) Effects of ruminal protein degradability and frequency of supplementation on nitrogen retention, apparent digestibility, and nutrient flux across visceral tissues in lambs fed low-quality forage. *Journal of Animal Science* 88, 727–736.
- Barbero RP, Malheiros EB, Araújo TLR, Nave RLG, Mulliniks JT, Berchielli TT, Ruggieri AC, Reis RA (2015) Combining Marandu grass grazing height and supplementation level to optimize growth and productivity of yearling bulls. *Animal Feed Science Technology* 209, 110–118.
- Barbosa AM, Valadares RFD, Valadares Filho SC, Vêras RML, Leão MI, Detmann E, Souza MA (2006) Efeito do período de coleta de urina, dos níveis de concentrado e de fontes proteicas sobre a excreção de creatinina, de ureia e de derivados de purina e a produção microbiana em bovinos Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35, 870-877.
- Barthram GT (1985) Experimental techniques: the HFRO sward stick. Biennial Report, HFRO, Midlothian. 29–30.
- Berça AS, Romanzini EP, Cardoso AS, Ferreira LE, D'Áurea AP, Fernandes LB, Reis RA (2021) Advances in Pasture Management and Animal Nutrition to Optimize Beef Cattle Production in Grazing Systems. *Veterinary Medicine and Science*, 1st ed.; IntechOpen:London, UK. 1:1–24.
- BR-Corte: Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados (2016) Ed: Valadares Filho SC, Silva LFC, Gionbelli MP, Rotta PP, Marcondes MI, Chizzotti ML, Prado LF. 3ed. Viçosa (MG): UFV, DZO, 327p.
- Bueno ICS, Vitti DMSS, Louvandini H, Abdalla AL (2008) A new approach for in vitro bioassay to measure tannin biological effects based on a gas production technique. *Animal Feed Science Technology* 141, 153–170.
- Bueno ICS, Cabral Filho SLS, Gobbo SP, Louvandini H, Vitti DMSS, Abdalla AL (2005) Influence of inoculum source in a gas production method. *Animal Feed Science Technology* 123-124 Part 1, 95–105.
- Cardoso AS, Berndt A, Leytem BJR, Alves IDN, Carvalho LH, Barros Soares S, Boddey RM (2016) Impact of the intensification of beef production in Brazil on greenhouse gas emissions and land use. *Agricultural Science* 143, 86-92.

- Casagrande DR, Ruggieri AC, Moretti MH, Berchielli TT, Vieira BR, Toledo AP, Roth P, Reis RA (2011) Sward canopy structure and performance of beef heifers under supplementation in *Brachiaria brizantha* cv. Marandu pastures maintained with three grazing intensities in a continuous stocking system. *Revista Brasileira de Zootecnia* 40, 2074-2082.
- Chamberlain DG, Robertson S, Choung JJ (1993) Sugars versus starch as supplements to grass silage: effects on ruminal fermentation and the supply of microbial protein to the small intestine, estimated from the urinary excretion of purine derivatives, in sheep. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 63, 189-194.
- 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.
- Costa VAC, Detmann E, Fonseca Paulino M, Valadares Filho SC, Carvalho IPC, Monteiro LP (2011) Consumo e digestibilidade em bovinos em pastejo durante o período das águas sob suplementação com fontes de compostos nitrogenados e de carboidratos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 1788–1798.
- Costa DFA, Da Silva SC, Bittar CM, Takiya CS, Dórea JRR, Del Valle TA, Malafaia P, Santos FAP (2019) Citrus pulp-based supplement reduces the detrimental effects of high grazing pressure on the performance of beef cattle under a rotational system of *Urochloa brizantha*. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 20:e0362019.
- Delevatti LM, Romanzini EP, Koscheck JFW, Araujo TLR, Renesto DM, Ferrari AC, Barbero RP, Mullinikis JT, Reis RA (2019a) Forage management intensification and supplementation strategy: Intake and metabolic parameters on beef cattle production. *Animal Feed Science Technology* 247, 74-82.
- Delevatti LM, Cardoso AS, Barbero RP, Leite RG, Romanzini EP, Ruggieri AC, Reis RA (2019b) Effect of nitrogen application rate on yield, forage quality, and animal performance in a tropical pasture. *Scientific Reports* 9.
- Detmann E, Valente EEL, 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.

- Detmann E, Paulino MF, Zervoudakis JT, Valadares Filho SC, Lana RP, Queiroz DS (2001) Suplementação de Novilhos Mestiços durante a Época das Águas: Parâmetros Ingestivos e Digestivos. *Revista Brasileira de Zootecnia* 30, 470-481.
- Detmann E, Souza MA, Valadares Filho SC, Queiroz AC, Berchielli TT, Saliba EOS, Cabral LS, Pina DS, Ladeira MM, Azevedo JAG (2012) Métodos para análise de alimentos – Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal (INCT). Visconde do Rio Branco: Suprema.
- Embrapa - Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos, 3rd ed.; EMBRAPA: Brasília, Brazil, 2013.
- Euclides VPB, Euclides Filho K, Paim Costa F, Figueiredo GR (2001) Desempenho de Novilhos F1s Angus-Nelore em Pastagens de *Brachiaria decumbens* Submetidos a Diferentes Regimes Alimentares. *Revista Brasileira de Zootecnia* 30, 470-481.
- Fenner H (1965) Method for Determining Total Volatile Bases in Rumen Fluid by Steam Distillation. *Journal of Dairy Science* 48, 249–251.
- Ferrari AC, Leite RG, Fonseca NVB, Romanzini EP, Cardoso AS, RP Barbero, Costa DFA, Ruggieri AC, Reis RA (2021) Performance, nutrient use, and methanogenesis of Nellore cattle on a continuous grazing system of *Urochloa brizantha* and fed supplement types varying on protein and energy sources. *Livestock Science*, 253, 104716.
- Figueira DN, Neumann M, Ueno RK, Muller MML, Faria MV (2015) Produção e composição química do capim elefante cv. pioneiro em diferentes alturas de resíduo - revisão de literatura. *Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias*.
- Filípek J, Dvořák R (2009) Determination of the volatile fatty acid content in the rumen liquid: Comparison of gas chromatography and capillary isotachopheresis. *Acta Veterinaria Brno* 78, 627–633.
- Fonseca NVB, Cardoso AS, Berça AS, Dornellas IA, Ongaratto F, Silva MLC, Ruggieri AC, Reis RR (2022) Effect of different nitrogen fertilizers on nitrogen efficiency use in Nellore bulls grazing on Marandu palisade grass. *Livestock Science* 263: 105012.

- Gozho GN, Plaizier JC, Krause DO, Kennedy AD, Wittenberg KM (2005) Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response. *Journal of Dairy Science* 88, 1399–1403.
- Hoffmann A, Cardoso AS, Fonseca NVB, Romanzini EP, Siniscalchi D, Berndt A, Ruggieri AC, Reis RA (2021) Effects of supplementation with corn distillers' dried grains on animal performance, nitrogen balance, and enteric CH₄ emissions of young Nellore bulls fed a high-tropical forage diet. *Animal* 15.
- Homem Junior AC, Ezequiel JMB, Fávaro VR, Almeida MTC, Paschoaloto JR, D'áurea AP, Carvalho VC, Nocera BF, Cremasco LF (2017) Methane production by in vitro ruminal fermentation of feed ingredients. *Semina: Ciência Agrária* 38, 877-883.
- Hopper JT, Holloway JW, Butts Jr WT (1978) Animal variation in chromium sesquioxide excretion patterns of grazing cows. *Journal of Animal Science* 46, 1098-1102.
- Ítavo LCV, Santos GTD, Jobim CC (2000) Boltolini, J.R. Bortolassi, C.C.B. Ferreira. Aditivos na conservação do bagaço de laranja in natura na forma de silagem. *Revista Brasileira de Zootecnia* 29,1474-1484.
- Johnson CR, Reiling BA, Mislevy P, Hall MB (2001) Effects of nitrogen fertilization and harvest date on yield, digestibility, fiber, and protein fractions of tropical grasses. *Journal of Animal Science* 79,2439-2448.
- Koscheck JFW, Romanzini EP, Barbero RP, Delevatti LM, Ferrari AC, Mulliniks JT, Mousquer CT, Berchielli TT, Reis RA (2020) How do animal performance and methane emissions vary with forage management intensification and supplementation?. *Animal Production Science* 60, 1201–1209.
- Miron J, Yosef E, Ben-Ghedalia D (2001) Composition and in vitro digestibility of monosaccharide constituents of selected byproduct feeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 2322-2326.
- Moreira, P.C., R.B. Reis, R.D.C. Wascheck, P.L.D.P. Rezende, A.C. Mendonça, L.F. Rassi. 2009. Degradabilidade in situ das rações de vacas da raça holandês em lactação com substituição do milho por polpa cítrica. *Cienc. Anim. Bras.* 10:406-412.

- Mott, G.O., H.L. Lucas. 1952. The design conduct and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. *Proc. International Grassland Congress*. p.1380-1395.
- Mottet, A., F. Teillard, P. Boettcher, G. de Besi, and B. Besbes. 2018. Review: Domestic herbivores and food security: Current contribution, trends and challenges for a sustainable development. *Animal*. 12:S188–S198.
- Myers, W. D., P. A. Ludden, V. Nayigihugu, and B. W. Hess. 2004. Technical Note: A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. *Journal of Animal Science* 82:179-183.
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2016) Nutrient Requirements of Beef Cattle. 8th ed. The National Academies Press, Washington, DC.
- Norris AB, Tedeschi LO, Muir JP (2019) Assessment of in situ techniques to determine indigestible components in the feed and feces of cattle receiving supplemental condensed tannins. *Journal of Animal Science* 97(12),5016-5026.
- Oliveira AP, Casagrande DR, Bertipaglia LMA, Barbero RP, Berchielli TT, Ruggieri AC, Reis RA (2016) Supplementation for beef cattle on Marandu grass pastures with different herbage allowances. *Animal Production Science* 56,123–129.
- Ørskov ER, McDonald I (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science* 92, 499-503.
- Owens FN, Goetsch AL (1986) Digesta passage and microbial protein synthesis. In: Milligan, L.P., W.L. Grovum, A. Dobson (Eds.). *Control of digestion and metabolism in ruminants*. London: Prentice Hall. p.196-226.
- Owens FN, Basalan M (2016) Ruminal fermentation. In: *Rumenology*. Springer, Cham. p. 63-102.
- Páscoa AG (2009) Comportamento de bovinos de corte em resposta à disposição espacial de condicionadores de pastejo. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – UNESP. 118p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, 2009.

- Penner GB, Taniguchi M, Guan LL, Oba M (2009) The dietary forage to concentrate ratio does not affect the rate of volatile fatty acid absorption but alters the expression of genes regulating energy metabolism in rumen tissue. *Journal of Dairy Science* 92,2767-2781.
- Petty SR, Poppi SP, Triglone T (1998) Effect of maize supplementation, seasonal temperature and humidity on the live weight gain of steers grazing irrigated *Leucaena leucocephala*/*Digitaria eriantha* pastures in north-west Australia. *Journal of Agricultural Science* 130(1),95-105.
- Poirier S, Madigou C, Bouchez T, Chapleur O (2017) Improving anaerobic digestion with support media: Mitigation of ammonia inhibition and effect on microbial communities. *Bioresources Technology* 235, 229–239.
- Poppi DP (1990) Manipulation of nutrient supply to animals at pasture. Opportunities and consequences. In Proceedings-AAAP Animal Science Congress (No. 5 (Vol. 1), pp. 40-79).
- Poppi DP, McLennan RS, Bediye S, Veja A, Zorrila-Rios J (1997) Forage quality: strategies for increasing nutritive value of forages. In: International Grassland Congress. p. 307-322.
- Poppi DP, Quigley SP, Silva TACC, McLennan SR (2018) Challenges of beef cattle production from tropical pastures. *Revista Brasileira de Zootecnia* 47.
- Poppi DP, McLennan SR (1995) Protein and energy utilization by ruminants at pasture. *Journal of Animal Science* 73,278-290.
- Reis RA, Ruggieri AC, Casagrande DR, Páscoa AG (2009) Suplementação da dieta de bovinos de corte como estratégia do manejo das pastagens. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38,147-159.
- Ruggieri AC, Cardoso AS, Ongaratto F, Casagrande DR, Barbero RP, Brito LF, Azenha MV, Oliveira AA, Koscheck JFW, Reis RA (2020) Grazing Intensity Impacts on Herbage Mass, Sward Structure, Greenhouse Gas Emissions, and Animal Performance: Analysis of *Brachiaria* Pastureland. *Agronomy*, 10(11),1750.
- Santos FA, Mendonça A (2006) Metabolismo de proteínas. In: Berchielli TT, Pires AV, Oliveira SG. *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal: FUNEP. 583p

- Schären M, Seyfang GM, Steingass H, Dieho K, Dijkstra J, Hüther L, Frahm J, Beineke A, Von Soosten D, U Meyer, Breves G, Dänicke S (2016) The effects of a ration change from a total mixed ration to pasture on rumen fermentation, volatile fatty acid absorption characteristics, and morphology of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 99,3549–3565.
- Serafim JA, Silveira RF, Vicente EF (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*. 1-7.
- Silva Júnior JM, Rennó LN, Valadares Filho SC, Paulino MF, Detmann E, Menezes GCC, Martins TC, Paula RM, Rodrigues JPP, Marcondes MI (2018) Evaluation of collection days and times to estimate urinary excretion of purine derivatives and nitrogen compounds in grazing Nellore cattle. *Livestock Science* 217,85–91.
- Snnifen JC, O’connor JD, Van Soest PJ, Fox DJ, Russell JB (1992) A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science* 70,3562 – 3577.
- Sollenberger LE, Cherney DJR (1995) Evaluating forage production and quality. The Science of Grassland Agriculture, Iowa State University Press, p.97-110.
- Team RC (2018) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Available online: <https://www.R-project.org/> (20 March 2021).
- Tedeschi LO, Fox DG (2020) The Ruminant Nutrition System: Volume I-An Applied Model for Predicting Nutrient Requirements and Feed Utilization in Ruminants, 3rd ed.; XanEdu: Ann Arbor, MI, USA.
- Tedeschi LO, Kononoff PJ, Karges K, Gibson ML (2009) Effects of chemical composition variation on the dynamics of ruminal fermentation and biological value of corn milling (co) products. *Journal of Dairy Science* 92,401-413.
- Titgemeyer EC, Armendariz CK, Bindel DJ, Greenwood RH, Lö CA (2001) Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia* 79, 1059-1063.

- Van Raij, B.; H. Cantarella, J.A. Quaggio, A.M. Furlani. 1997. Recomendações de adubação e calagem para o estado de São Paulo. 2. ed. rev. e atual. Campinas: Instituto Agrônomo/ Fundação IAC. 285p.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74,3583-3597.
- Van Soest PJ (1994) Nutritional Ecology of the Ruminant; Cornell University Press: Ithaca, NY, USA.
- Vieira BR, Azenha MV, Casagrande DR, Costa DFA, Ruggieri AC, Berchielli TT, Reis RA (2017) Ingestive behavior of supplemented Nellore heifers grazing palisadegrass pastures managed with different sward heights. *Journal of Animal Science* 88,696–704.
- Wanapat, M, Gunun P, Anantasook N, Kang S (2014) Changes of rumen pH, fermentation and microbial population as influenced by different ratios of roughage (rice straw) to concentrate in dairy steers. *Journal of Agricultural Science* 152,675–685.
- Yang WZ, Beauchemin KA, Vedres DD, Ghorbani GR, Colombatto D, Morgavi DP (2004) Effects of direct-fed microbial supplementation on ruminal acidosis, digestibility, and bacterial protein synthesis in continuous culture. *Animal Feed Science Technology* 114,179–193.
- Young EG, Conway CF (1942) On the estimation of allantoin by the Rimini-Schryver reaction. *Journal of Biological Chemistry* 142(2), 839-853.

Tables

Table 1. Composition of supplements provided to F1 Angus x Nellore young bull during rearing phase.

Item	Corn	Citrus Pulp
<i>Ingredients proportion (%DM)</i>		
Ground corn grain	95.0	-
Ground citrus pulp	-	95.0
Mineral Premix ¹	5.0	5.0
<i>Chemical composition of supplements (g/kg DM)</i>		
Dry matter	889.8	901.3
Organic Matter	914.4	863.1
Ash	85.6	137.0
Crude Protein	106.0	82.9
NDF	114.1	302.6
iNDF	52.6	74.7
Ether extract	37.0	24.0
NFC	657.3	544.6
TDN	850.0	770.0
Starch	720.0	2.0
Pectin	-	235.0

DM: dry matter; NDF: neutral detergent fiber; iNDF: indigestible NDF; TDN: total digestible nutrients.

¹Guarantee levels: 16.2 g/kg Na; 45.9 g/kg Cu; 28.2 g/kg Mn; 170.0 g/kg Zn; 2.5 g/kg Co; 3.4 g/kg I; 0.8 g/kg Se.

Table 2. Forage mass, forage and leaf allowances, stocking rate, and morphological composition of palisade grass pastures fertilized with 180 kg N/ha/year during the rearing phase of F1 Angus x Nellore young bulls, supplemented with 0.3% BW with corn or citrus pulp at 0900 h or 1700 h.

	0900 h		1700 h	
	Corn	Citrus Pulp	Corn	Citrus Pulp
Forage mass (kg DM/ha)	7720	7870	8360	8660
Forage Allowance (kg DM/kg BW)	3.7	4.1	4.0	4.1
Leaf Allowance (kg DM/kg BW)	0.8	1.0	1.1	1.0
Leaves (%)	25.7	23.4	25.5	22.9
Stem + sheath (%)	27.8	27.6	31.4	29.0
Dead material (%)	46.5	49.0	43.1	48.1
Leaf/stem	1.0	0.9	0.9	0.9

DM: dry matter; BW: body weight.

Table 3. Chemical composition, and carbohydrate and protein fractions of palisade grass pastures fertilized with 180 kg N/ha/year during the rearing phase of F1 Angus x Nellore young bulls, supplemented with 0.3% BW with corn or citrus pulp at 0900 h or 1700 h.

	0900 h		1700 h	
	Corn	Citrus Pulp	Corn	Citrus Pulp
Dry matter (g/kg)	941	941	945	942
Organic matter (g/kg DM)	913	918	915	914
Crude Protein (g/kg DM)	142	140	142	138
Ether extract (g/kg DM)	24	23	24	23
NDF (g/kg DM)	682	693	675	683
apNDF (g/kg DM)	574	573	601	558
pdNDF (g/kg DM)	392	391	398	354
Hemicellulose (g/kg DM)	360	357	352	358
ADF (g/kg DM)	323	337	323	325
Cellulose (g/kg DM)	126	128	128	121
Lignin (g/kg DM)	18	19	21	16
TDN (g/kg DM)	570	576	595	606
<i>Carbohydrate Fractionation (g/kg DM)</i>				
TC	747	754	749	753
NFC	173	179	149	197
iNDF	188	197	186	187
<i>Protein Fractionation(g/kg CP)</i>				
Fraction A	355	332	294	268
Fraction B1+B2	180	215	217	245
Fraction B3	223	228	238	234
Fraction C	242	225	251	255

DM: dry matter; NDF: neutral detergent fiber; apNDF: NDF corrected for ash and protein; pdNDF: potentially digestible NDF; ADF: acid detergent fiber; CP: crude protein; TC: total carbohydrates; NFC: non-fibrous carbohydrates; TDN: total digestible nutrients; iNDF: indigestible NDF.

Table 4. Total intake and digestibility of nutrients (forage + supplement) in cannulated F1 Angus x Nellore young bulls grazing palisade grass pastures and supplemented with 0.3% BW with corn or citrus pulp at 0900 h or 1700 h.

	0900 h		1700 h		SEM	<i>P-value*</i>		
	Corn	Citrus Pulp	Corn	Citrus Pulp		Source	Time	Source x Time
<i>Total intake</i>								
DMI (kg/d)	7.0	6.7	7.3	6.7	0.61	0.342	0.686	0.776
DMI (% BW)	2.2	2.2	2.3	2.2	0.13	0.111	0.680	0.683
OMI (kg/d)	6.5	6.1	6.8	6.2	0.47	0.246	0.650	0.744
DOMI (kg/d)	4.8	4.4	5.1	4.5	1.48	0.340	0.595	0.746
CPI (kg/d)	0.9	1.0	0.9	1.0	0.09	0.431	0.903	0.867
g CP/kg DOM	197.8 b	224.7 a	183.4 b	218.1 a	8.65	0.002	0.183	0.624
NDFI (kg/d)	4.5	4.5	4.5	4.2	0.36	0.699	0.733	0.702
EEI (kg/d)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.01	0.147	0.863	0.666
TDNI (kg/d)	4.6	4.1	4.8	4.2	0.35	0.171	0.517	0.756
<i>Digestibility</i>								
DMD (%)	70.0	71.3	66.5	68.5	3.31	0.275	0.144	0.856
OMD (%)	72.2	71.1	73.9	71.1	2.97	0.308	0.199	0.510
CPD (%)	55.2	56.0	55.7	60.7	4.25	0.595	0.299	0.749
NDFD (%)	69.0	69.0	66.9	66.0	4.20	0.881	0.197	0.909

DMI: dry matter intake; BW: body weight; OMI: organic matter intake; DOMI: digestible organic matter intake; CPI: crude protein intake; CP: crude protein; DOM: digestible organic matter; NDFI: neutral detergent fiber intake; EEI: ether extract intake; TDNI: total digestible nutrients intake; DMD: dry matter digestibility; OMD: organic matter digestibility; CPD: crude protein digestibility; NDFD: neutral detergent fiber digestibility; TDND: total digestible nutrients digestibility; SEM: standard error of mean. Source: energy source (corn/citrus pulp); Time: supplementation time (0900 h/1700 h). *Within a row, different letters indicate significance at 0.05.

Table 5. Efficiency of nitrogen use and microbial protein synthesis of F1 Angus x Nellore young bulls reared in palisade grass pastures and supplemented with 0.3% BW with corn or citrus pulp at 0900 h or 1700 h.

	0900 h		1700 h		SEM	<i>P-value*</i>		
	Corn	Citrus Pulp	Corn	Citrus Pulp		Source	Time	Source x Time
Urea (mmol/d)	483	645	684	558	82.91	0.810	0.515	0.093
N ingested (g/d)	144	157	145	153	14.57	0.435	0.900	0.871
N excreted (g/d)	69	67	67	63	5.15	0.318	0.473	0.808
N retention (g/d)	74	77	78	90	11.46	0.476	0.393	0.671
ENU (%)	49	55	52	57	3.02	0.143	0.339	0.828
MCP (g/d)	737.4	551.0	591.8	784.0	191.50	0.997	0.647	0.127
g MCP/kg DOM	158	150	124	176	8.16	0.615	0.911	0.156

N: nitrogen; Nmic: ruminal synthesis of N compounds; DOM: digestible organic matter; ENU: efficiency of N use; SEM: standard error of the mean. Source: energy source (corn/citrus pulp); Time: supplementation time (0900 h/1700 h).

Table 6. Ruminal parameters of cannulated F1 Angus x Nellore young bulls reared in palisade grass pastures and supplemented with 0.3% BW with corn or citrus pulp, at 0900 h or 1700 h.

Ruminal parameter	0900 h		1700 h		Collection time ¹								SEM	P-value*						
	Corn	Citrus Pulp	Corn	Citrus Pulp	0300 h	0600 h	0900 h	1200 h	1500 h	1800 h	2100 h	2400 h		A	B	CT	A*B	A*CT	B*CT	A*B*CT
N-NH ₃ (mg/dL)	14.1 a	12.8 b	15.7 a	13.2 b	15.2	10.5	15.8	14.5	15.3	18.7	11.7	10.2	0.23	0.005	0.052	<0.001	0.246	<0.001	<0.001	0.712
pH	6.05 b	6.21 a	6.06 b	6.20 a	6.17	6.31	6.17	6.30	6.11	6.18	5.84	5.95	0.0204	0.021	0.969	<0.0001	0.992	0.999	0.200	0.9546
SCFA (mmol/L)																				
Formic acid	4.3 b	5.1 a	4.0 b	4.5 a	4.6	4	4	4.2	4.2	5.2	4.8	4.8	0.1	0.005	0.189	<0.0001	0.548	0.042	0.142	0.056
Lactic acid	9.7	11.2	10.5	12.1	5.1	5	9.6	8.1	16.3	10.2	17.8	15.1	1.0	0.236	0.716	0.003	0.468	0.276	0.985	0.479
Acetic acid	49.5	43.0	46.8	47.0	48.1	52.8	48.4	47.1	45.6	44.3	43.8	42.8	1.9	0.272	0.743	0.449	0.372	0.312	0.804	0.793
Propionic acid	17.6	15.1	17.9	15.2	14.8	12.5	9.5	11.1	16.8	21.3	23.3	22.2	1.0	0.784	0.871	0.001	0.735	0.613	1.000	0.914
Butyric acid	10.5	11.0	11.5	11.7	8.3	7.3	7.4	7.9	13.5	15.5	16.7	13.2	0.6	0.628	0.597	<0.0001	0.254	0.414	0.572	0.731
Isovaleric acid	2.4	2.7	2.4	4.0	1.8	1.6	1.5	2.3	4.5	6.6	2.8	1.7	0.4	0.964	0.530	0.006	0.832	0.327	0.345	0.185
Valeric acid	11.0 b	12.3 a	10.9 b	13.4 a	13.5	13.9	11.3	11.3	11	10.3	11.1	12.7	0.5	0.042	0.720	0.125	0.848	0.311	0.671	0.625
(% SCFA)																				
Formic acid	4.10 b	5.08 a	3.85 b	4.17 a	4.78	4.12	4.36	4.57	3.75	4.59	3.99	4.27	0.1	0.005	0.189	<0.0001	0.548	0.042	0.142	0.056
Lactic acid	9.24	11.16	10.10	11.21	5.30	5.15	10.47	8.80	14.57	8.99	14.80	13.42	1.0	0.236	0.716	0.003	0.468	0.276	0.985	0.479
Acetic acid	47.14	42.83	45.00	43.56	50.00	54.38	52.78	51.20	40.75	39.07	36.41	38.04	1.9	0.272	0.743	0.449	0.372	0.312	0.804	0.793
Propionic acid	16.76	15.04	17.21	14.09	15.38	12.87	10.36	12.07	15.01	18.78	19.37	19.73	1.0	0.784	0.871	0.001	0.735	0.613	1.000	0.914
Butyric acid	10.00	10.96	11.06	10.84	8.63	7.52	8.07	8.59	12.06	13.67	13.88	11.73	0.6	0.628	0.597	<0.0001	0.254	0.414	0.572	0.731
Isovaleric acid	2.29	2.69	2.31	3.71	1.87	1.65	1.64	2.50	4.02	5.82	2.33	1.51	0.4	0.964	0.530	0.006	0.832	0.327	0.345	0.185
Valeric acid	10.48 b	12.25 a	10.48 b	12.42 a	14.03	14.32	12.32	12.28	9.83	9.08	9.23	11.29	0.5	0.042	0.720	0.125	0.848	0.311	0.671	0.625

N-NH₃: ammoniacal nitrogen; SCFAs: short-chain fatty acids; SEM: standard error of mean. Factor A: energy source (corn/citrus pulp); Factor B: supplementation time (0900 h/1700 h); CT: collection time. *Within a row, different letters indicate significance at 0.05. ¹Means of the four treatments.

Table 7. Performance, gain per area and stocking rate of F1 Angus x Nellore young bulls reared in palisade grass pastures and supplemented with 0.3% BW with corn or citrus pulp, at 0900 h or 1700 h.

	0900 h		1700 h		SEM	<i>P-value*</i>		
	Corn	Citrus Pulp	Corn	Citrus Pulp		Source	Time	Source x Time
IBW (kg)	312	300	292	320	34.25	0.509	0.996	0.082
FBW (kg)	412	408	403	425	21.17	0.209	0.607	0.099
ADG (kg/d)	0.95	0.91	0.86	1.06	0.35	0.193	0.606	0.076
GPH (kg BW/ha)	775.5	730.5	741.0	726.0	27.0	0.891	0.777	0.792
Stocking rate (AU/ha)	4.6	4.3	4.7	4.7	0.01	0.214	0.764	0.162

IBW: initial body weight; FBW: final body weight; ADG: average daily gain; GPH: gain per hectare; BW: body weight; AU: animal unit (1 AU = 450 kg BW); SEM: standard error of the mean. Source: energy source (corn/citrus pulp); Time: supplementation time (0900 h/1700 h). * Within a row, different letters indicate significance at 0.05 using the Tukey test.

Figures

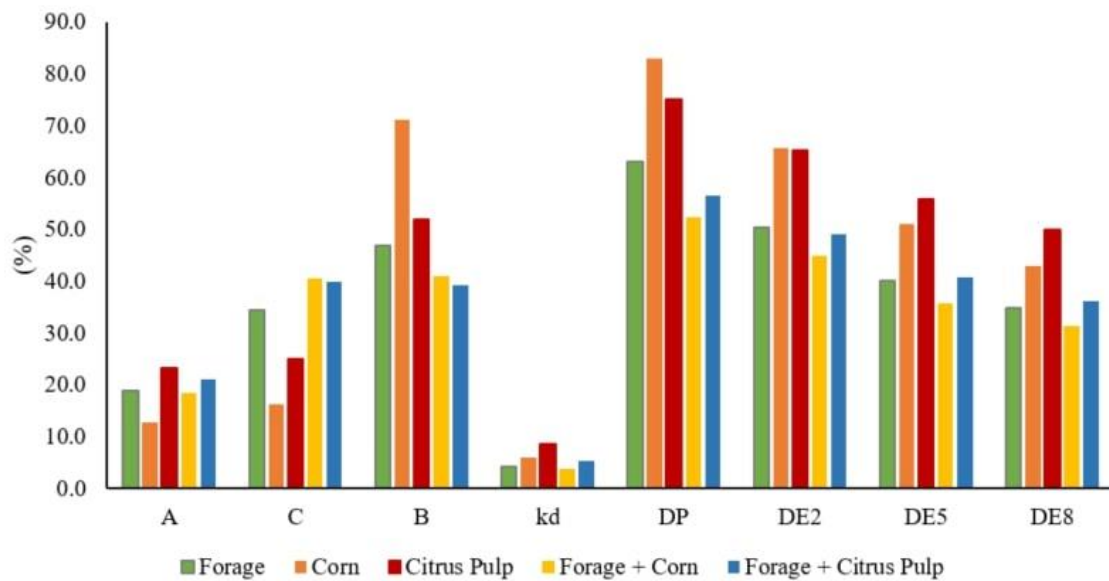


Figure 1. Ruminal kinetics of forage, corn, citrus pulp, and forage associated with energy supplement sources.

*A: Fraction A of carbohydrate, with a rapid rate of ruminal degradation (organic acids and sugars); B: fractions B1 and B2 of carbohydrate, with intermediate-slow degradation rate (starch, pectin, cellulose, and hemicellulose); C: Fraction C of indigestible and unavailable carbohydrate (lignin); kd: degradation rate; DP: potential degradability; DE2: estimated degradability in 2 hours; DE5: estimated degradability in 5 hours; DE8: estimated degradability in 8 hours.

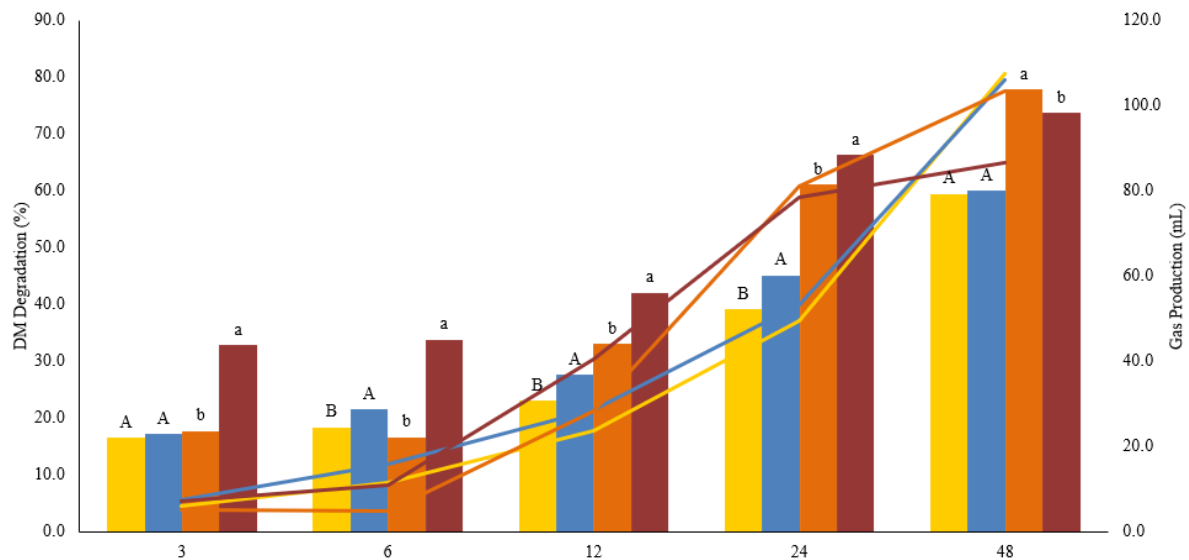


Figure 2. Dry matter in vitro degradability and total gas production of the corn, citrus pulp, and its association with forage.

* Uppercase different letters indicate significance at 0.05 between forage + corn and forage + citrus pulp. Lowercase difference letters indicate significance at 0.05 between corn and citrus pulp.

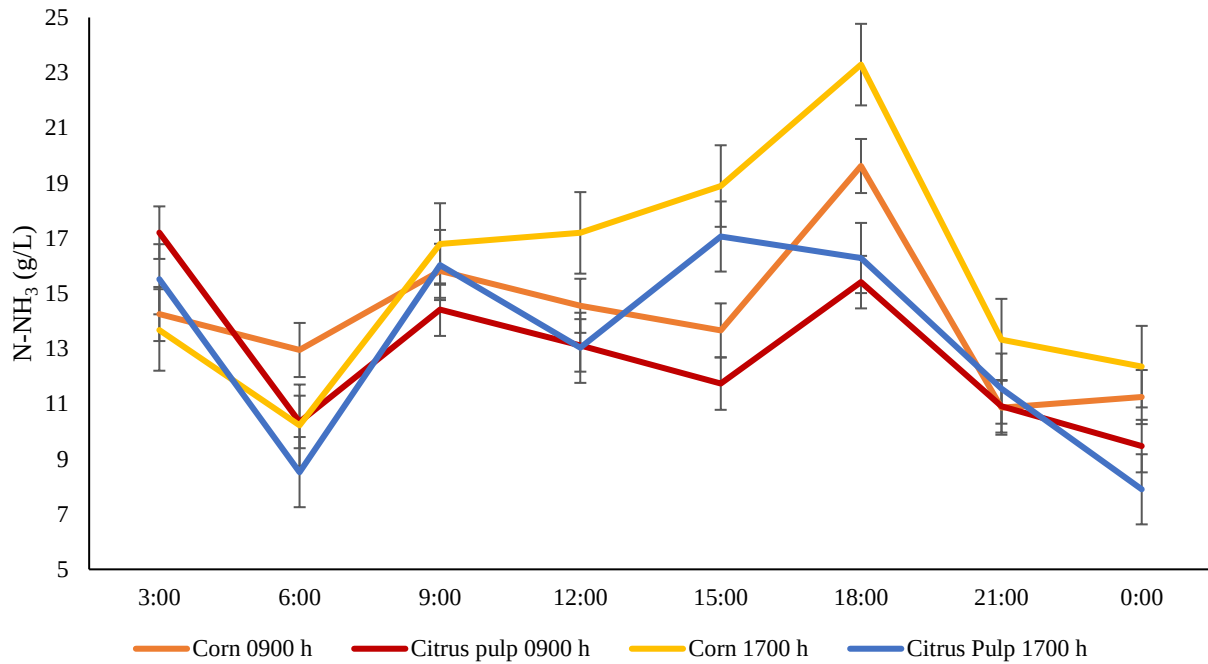


Figure 3. Variation of N-NH₃ (g/L) throughout the day of F1 Angus x Nellore young bulls reared in palisade grass pastures and supplemented at 0.3% BW with corn or citrus pulp at 0900 h or 1700 h. (Figure not published in the article).

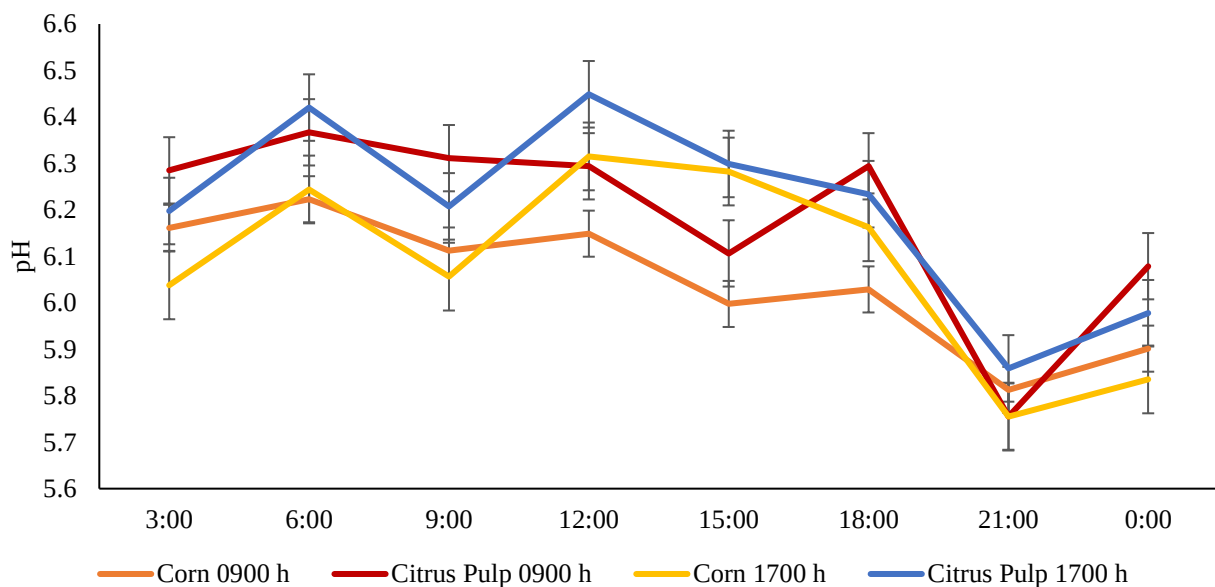


Figure 4. Variation of ruminal pH throughout the day of F1 Angus x Nellore young bulls reared in palisade grass pastures and supplemented at 0.3% BW with corn or citrus pulp at 0900 h or 1700 h. (Figure not published in the article).

CAPÍTULO 3 - Meta-analysis of the relationship between dietary condensed tannins and methane emissions by cattle

Andressa Scholz Berça^{1*}, Luís Orlindo Tedeschi[§], Abmael da Silva Cardoso[†], Ricardo Andrade Reis^{*}

^{*} Department of Animal Sciences, Sao Paulo State University, Jaboticabal, SP, Brazil, 14884-900.

[†]Range Cattle Research and Education Center, University of Florida, Ona, FL, USA, 33865

[§]Department of Animal Science, Texas A&M University, College Station, TX, United States, 77843-2471.

¹Corresponding author: Andressa Scholz Berça, Sao Paulo, SP, Brazil, 05086-000. E-mail: dessaberca@yahoo.com.br

¹ Este capítulo corresponde ao artigo científico publicado na revista Animal Feed Science and Technology, *in press*. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2022.115564.

Highlights

- Condensed tannins are an efficient natural, organic additive to mitigate CH₄ emissions from cattle.
- Diet composition directly influences CH₄ emissions.
- Prediction models of CH₄ emissions based on CT and diet composition can determine mitigation strategies.

Abstract

Using condensed tannins (CT) in ruminant nutrition yields many benefits, especially regarding better dietary protein utilization and decreased methane (CH₄) emission by altering ruminal fermentation kinetics. A meta-analysis was conducted to develop and analyze a database from published studies and verify the effects of CT inclusion on enteric CH₄ emission by cattle, nutrient digestibility and ruminal parameters, and their interactions. The study aimed to develop regression equations based on the significant components and their interactions to target a specific ruminal CH₄ mitigation when correctly associating CT inclusion level and diet composition. A database was developed from 40 published studies that measured cattle CH₄ emission using *in vitro* or *in vivo* methods and reported the source and inclusion levels of CT as well as typical diet characteristics, including crude protein (CP), organic matter (OM), neutral detergent fiber (NDF), and ether extract (EE). Other related

parameters were also included in the database when reported, such as dry matter intake (DMI) and digestibility, OM digestibility, NDF digestibility, and ruminal parameters, including pH, ruminal ammonia nitrogen, total volatile fatty acids (VFA), acetate, propionate, butyrate, and the acetate-to-propionate ratio. The meta-analysis was conducted by multiple linear regression, using the *nlme* package of R 4.2.1, in which studies were assumed as random variables affecting the intercept and slopes. The CH₄ emission, expressed in L/kg of DMI, decreased with increasing levels of dietary CT when *in vitro* and *in vivo* were analyzed together ($P < 0.001$) or *in vivo* alone ($P < 0.001$). Total VFA concentration ($P = 0.049$), propionate ($P = 0.042$), and butyrate ($P = 0.047$) increased with increasing levels of dietary CT on *in vitro* + *in vivo* methods, suggesting improved fermentability. When analyzing all chemical components of the diet, OM ($P = 0.043$) and CP ($P = 0.010$) decreased CH₄ production with *in vitro* methods, EE decreased CH₄ production on *in vivo* method ($P = 0.001$), while dietary NDF increased CH₄ production on *in vitro* + *in vivo* ($P = 0.016$), and also separately for *in vivo* ($P = 0.058$) and *in vitro* method ($P = 0.022$). There was an interaction between CT and CP for *in vivo* experiments ($P = 0.010$): $\text{CH}_4 = 35.64 - 6.87 \times \text{CT} - 0.49 \times \text{CP} + 0.33 \times \text{CT} \times \text{CP}$. Across many experiments, increasing the level of dietary CT led to a decrease in ruminal CH₄ concentrations for *in vitro* and *in vivo* fermentation conditions and an increase in molar proportions of propionate, butyrate, and total VFA, indicating that it is an efficient natural alternative to reduce environmental impacts of ruminant production systems possibly. Our meta-analysis identified diet components that significantly affect enteric CH₄ emissions by cattle and developed a prediction model based on these components, including OM, CP, NDF, and EE. The *in vivo* CH₄ method showed that an interaction between CT and CP diet content affects CH₄ emissions. Future research and meta-analysis must focus on CT biological activity along with percent content to dictate ideal diet inclusion to suppress CH₄ emissions without depressing animal performance.

Abbreviations

CH₄, methane; CP, crude protein; CT, condensed tannins; DM, dry matter; DMD, dry matter digestibility; DMI, dry matter intake; EE, ether extract; GHG, greenhouse gases; H₂, hydrogen; IVGP, *in vitro* gas production; NDF, neutral detergent fiber; NDFD, neutral detergent fiber digestibility; N-NH₃, ruminal ammonia nitrogen; OM, organic matter; OMD, organic matter digestibility; SF₆, sulphur hexafluoride; VFA, volatile fatty acids.

Keywords

Additives; Beef cattle; Greenhouse gas emissions; Polyphenolic compounds; Ruminal parameters; Sustainability.

1. Introduction

Research on mitigating methane (CH_4) emissions from ruminants has received attention in recent years, mainly because CH_4 is among the most important greenhouse gases (GHG) in the atmosphere and contributes to the global warming phenomenon (Tedeschi et al., 2022). In a sustainable livestock system, strategies to reduce the CH_4 emissions by ruminants include the use of condensed tannins (CT), a plant secondary metabolite that has shown benefits in ruminant nutrition, especially regarding a better dietary protein utilization and a decrease in methanogenesis by manipulating ruminal fermentation (Tedeschi et al., 2011; Tedeschi and Fox, 2020).

The production of enteric CH_4 by ruminants is a fundamental process for the adequate functioning of their digestive system, but it results in a loss of gross ingested energy and, consequently, reduces animal growth and development (Berça et al., 2019). Enteric CH_4 emissions are responsible for 68.2% of total agriculture GHG emissions, which according to the Environmental Protection Agency (EPA, 2021), contributes to 9.6% of the total human-induced GHG in the world. Besides, beef cattle are responsible for about 4.6% of enteric CH_4 emissions of the world's total GHG emissions (EPA, 2021).

Although ionophores are the most used and researched additives in animal nutrition, as it has the potential to reduce CH_4 emissions and intake without affecting animal performance (Tedeschi et al., 2011), the excessive use of antibiotics in animal production has been questioned, mainly regarding bacteria resistance and food safety (Tedeschi et al., 2011). In this scenario, the search for safer alternatives to chemical additives, such as plants and plant extracts, has received attention due to their ability to manipulate rumen fermentation and animal metabolism to increase animal performance and promote beneficial environmental effects (Hart et al., 2008).

Condensed tannins are complex polymers of polyphenols found in legumes and other C_3 -type plants. They bind to proteins, metal ions, and polysaccharides, such as starch, cellulose, and hemicellulose (Muir et al., 2009). According to Smith et al. (2005), the complexation between CT and proteins or other compounds results in the inhibition and indisposition of substrates for digestion and rapid degradation by ruminal microorganisms.

Biologically active CT that exceeds 6% of diet dry matter (DM) comprises an anti-nutritional factor because it reduces intake, fiber digestibility, and animal performance

(McAllister et al., 2005; Pagán-Riestra et al., 2010). However, within adequate doses (2% to 4% DM), these compounds can promote beneficial effects, mainly GHG emissions, by ruminants (Martin et al., 2009). Condensed tannins also reduce the fiber fermentation in the rumen, which consequently reduces the formation of hydrogen and acetate and inhibits the growth of methanogenic microorganisms, thus reducing enteric CH₄ production (Beauchemin et al., 2008).

Several studies have evaluated the effects of dietary supplementation with CT, including CT diet content or its biological activity, on enteric CH₄ production and emission, nutrient intake and digestibility, and ruminal parameters (Beauchemin et al., 2007; Szczechowiak et al., 2016; Martello et al., 2020; Dias Batista et al., 2021). However, variations in the chemical composition of the diet, levels of CT included in the diet, and CH₄ measurement methods used are factors that could contribute to the variability of the effects observed in animals supplemented with CT (Aboyage et al., 2019; Norris et al., 2020; Orzuna-Orzuna et al., 2021). Therefore, in addition to other published studies, our meta-analysis included the variability sources and the interaction among factors in the prediction equations, which is essential to improve the sustainability of beef production.

Developing regression equations based on *in vitro* and/or *in vivo* experiments with cattle could be a highly effective tool in precision diet formulation to target a specific ruminal CH₄ mitigation when correctly associating CT inclusion level and diet composition. Our study aimed to develop and analyze a database from published studies and verify the effects of CT inclusion on enteric CH₄ emission by cattle, nutrient digestibility, ruminal parameters, and their interactions.

2. Material and methods

2.1. Database development

A comprehensive literature search in the scientific databases of Google Scholar, Web of Science, Scopus, and Texas A&M University Libraries was carried out to identify studies that investigated the effect of CT diet inclusion on enteric CH₄ emissions by cattle, digestibility of nutrients, and ruminal fermentation parameters. In all databases, the keywords “condensed tannin, methane emissions, cattle” were used.

Criteria for articles to be included in the database were: i) articles were published in English, ii) treatments included the addition of CT sources to basal diet, iii) CT sources were added independently from other interfering treatments, iv) CH₄ emissions were measured *in*

vitro or *in vivo*, and v) experiments were conducted *in vivo* or based on *in vitro* rumen fermentation systems.

A database was developed from 40 published studies that measured cattle CH₄ emission using *in vitro* or *in vivo* methods, published between 2007 and 2021 (Table 1). The studies reported the CT sources and their inclusion levels, CH₄ emissions, and basal diet characteristics, including crude protein (CP), organic matter (OM), and neutral detergent fiber (NDF). We did not differentiate biologically active from inert CT in our meta-analysis. Other related parameters were also recorded in the database, such as dry matter intake (DMI), dry matter digestibility (DMD), OM digestibility (OMD), NDF digestibility (NDFD), and ruminal parameters, including pH, ruminal ammonia nitrogen (N-NH₃), total volatile fatty acids (VFA), acetate (C2), propionate (C3), butyrate (C4), and acetate-to-propionate ratio (A/P). When available, additional data were collected, such as characteristics of the published study (author, journal, year of publication, and region), animal breed, animal category (dairy or beef cattle), animal body weight, the composition of basal diet, daily DM intake, source of CT, and amount of CT included in the diet (% CT in the diet).

2.2. Calculations

The database was segregated into two categories based on different methods used to measure CH₄, *in vitro* or *in vivo*. Before tabulation in the database, all data were transformed into similar units of measurement to allow direct analysis within a specific parameter. The majority of the *in vitro* experiments have been conducted using RUSITEC system and fermentation bottle methodology for *in vitro* gas production (IVGP). Whereas the data for *in vivo* experiments were taken using open-circuit respiration chambers, sulphur hexafluoride (SF₆) tracer technique, GreenFeed system, and gas chromatography. Tannin inclusion ranged from 0 to 4.1% of DM in the diet. Sources of CT were obtained from *Acacia mearnsii*; *Acacia molissima*; *Astragalus cicer*; *Bromis riparius*; *Enterolobium cyclocarpum*; *Garcinia mangostana*; *Gliricidia sepium*; *Leucaena leucocephala*; *Lotus corniculatus*; *Onobrychis viciifolia*; *Pistacia vera*; *Samanea saman*; *Sanguisorba minor*; *Schinopsi lorentzii*; *Schinopsi quebracho-colorado*; *Tamarindus indica*; *Vaccinium vitis idaea*; *Vaccinium vitis idaea*.

2.3. Statistical analyses

Statistical analysis of the database was conducted by a statistical meta-analysis approach. The Shapiro–Wilk test was adopted to ensure the normal distribution of the data. The precision and accuracy of fitted models were evaluated using the mean square error

and the mean square error of prediction, respectively (Tedeschi, 2006). Multiple linear regressions were obtained with the *nlme* package of R 4.2.1 (R Team, 2018). The *nlme* procedure (R Team, 2018) was used in the random coefficients model analysis, assuming studies as random variables that affected intercepts and slopes. Methane emission was considered the dependent variable, while CT inclusion levels, basal diet components, nutrient intake and digestibility, and ruminal parameters were considered independent variables. The following generalized statistical formulation was employed:

$$Y = (\beta_{00} + \beta_{10} * study) + (\beta_{01} + \beta_{11} * study) * X_1 + \dots + (\beta_{0n} + \beta_{1n} * study) * X_n + \varepsilon$$

where Y is the dependent variable of interest, *study* represents the random effect of studies, $X_1 \dots X_n$ are independent variables, $\beta_{00} \dots \beta_{0n}$ are parameter estimates for intercepts, $\beta_{10} \dots \beta_{1n}$ are parameter estimates for slopes, and ε is the random error.

An initial analysis was conducted assuming random slope and intercept effects, including a possible covariance between the slope and intercept using an unstructured variance-covariance matrix. The covariance parameter was considered different from zero if the P -value was less than 0.05. The models that best described the data with a minimum possible number of parameter estimates were determined based on Akaike's information criteria (AIC). We used variation inflation factor (VIF) to detect multicollinearity between independent variables in a linear equation with more than one predictor variable. If $VIF = 1$, there is no multicollinearity among regressors; if $1 \leq VIF \leq 5$, at least two regressors are moderately correlated; if $VIF > 5$, at least two regressors are highly correlated (Akinwande et al., 2015).

3. Results

3.1. Condensed tannin versus CH_4 emissions

The CH_4 emission, expressed in L/kg of DM ingested, decreased with increasing levels of dietary CT in *in vitro* + *in vivo* methods ($CH_4 = 26.89 - 2.54 \times CT$; $P = 0.000$; AIC = 455.01), as well as in *in vivo* experiments ($CH_4 = 29.55 - 3.64 \times CT$; $P = 8e^{-04}$; AIC = 327.87), but a similar outcome was not verified in *in vitro* experiments ($P = 0.132$; AIC = 119.16) (Table 2).

3.2. Condensed tannins versus nutrient digestibility

The OMD decreased with increasing levels of dietary CT in *in vitro* + *in vivo* methods ($OMD = 67.18 - 1.08 \times CT$; $P = 0.010$; AIC = 503.78), as well as in *in vivo* experiments ($OMD = 64.87 - 2.02 \times CT$; $P = 0.003$; AIC = 267.29), but it was not verified in *in vitro* experiments ($P = 0.274$; AIC = 51.33) (Table 3).

3.3. Condensed tannins versus ruminal parameters

Total VFA production increased with increasing levels of dietary CT in *in vitro* + *in vivo* methods ($\text{VFA} = 93.59 + 1.38 \times \text{CT}$; $P = 0.049$; $\text{AIC} = 612.45$), but it was not verified separately in *in vivo* ($P = 0.557$; $\text{AIC} = 198.08$) and *in vitro* experiments ($P = 0.649$; $\text{AIC} = 259.45$). Propionate also increased with the increase of dietary CT *in vitro* + *in vivo* (Propionate = $19.71 + 0.35 \times \text{CT}$; $P = 0.042$; $\text{AIC} = 488.74$), but it was not verified in *in vivo* ($P = 0.113$; $\text{AIC} = 163.35$) or *in vitro* ($P = 0.208$; $\text{AIC} = 216.39$) methods. At the same time, butyrate production increased with the increase of CT concentration in *in vitro* and *in vivo* methods (Butyrate = $11.49 + 0.17 \times \text{CT}$; $P = 0.047$; $\text{AIC} = 384.10$), but not separately in *in vivo* ($P = 0.784$; $\text{AIC} = 152.75$) and *in vitro* experiments ($P = 0.303$; $\text{AIC} = 135.95$) (Table 4).

3.4. CH₄ emissions versus condensed tannins and ruminal parameters

The CH₄ emissions were lower with greater diet CT levels and lower ruminal pH with the *in vivo* method ($\text{CH}_4 = 1.00 - 3.20 \times \text{CT} + 3.81 \times \text{pH}$; $P = 0.008$; $\text{AIC} = 107.16$) (Table 5). On the other hand, the CH₄ emissions decreased with increasing levels of CT and concentration of N-NH₃ in the rumen *in vivo* + *in vitro* analysis ($\text{CH}_4 = 26.53 - 1.18 \times \text{CT} - 0.38 \times \text{N-NH}_3$; $P = 0.001$; $\text{AIC} = 239.90$). In the *in vivo* method, CH₄ emission (L/kg of DM) decreased with increasing levels of dietary CT and at the same time with greater production of VFA ($\text{CH}_4 = 30.66 - 3.86 \times \text{CT} - 0.06 \times \text{VFA}$; $P = 0.022$; $\text{AIC} = 115.76$), acetate ($\text{CH}_4 = 34.29 - 3.44 \times \text{CT} - 0.11 \times \text{C}_2$; $P = 0.027$; $\text{AIC} = 139.93$), and propionate ($\text{CH}_4 = 33.51 - 3.44 \times \text{CT} - 0.37 \times \text{C}_3$; $P = 0.003$; $\text{AIC} = 134.60$). The CH₄ emissions decreased with increasing levels of CT and A/P relation in *in vivo* + *in vitro* ($\text{CH}_4 = 8.73 - 2.04 \times \text{CT} - 3.69 \times \text{A/P}$; $P = 0.003$; $\text{AIC} = 245.98$), *in vivo* ($\text{CH}_4 = 14.14 - 3.26 \times \text{CT} - 3.30 \times \text{A/P}$; $P = 0.017$; $\text{AIC} = 133.64$), and *in vitro* methods ($\text{CH}_4 = 3.14 - 1.27 \times \text{CT} - 3.50 \times \text{A/P}$; $P = 0.015$; $\text{AIC} = 93.28$).

3.5. CH₄ emissions versus dry matter intake

There was no effect of DMI on CH₄ emissions ($P > 0.05$), as well as no effect of the association of CT and DMI on CH₄ emissions ($P > 0.05$) (Table 6).

3.6. CH₄ emissions versus condensed tannins and diet components

When analyzing all chemical components of the diet, it was verified that the OM content of the diet decreased CH₄ production in *in vitro* methods ($\text{CH}_4 = 106.03 - 0.93 \times \text{OM}$; P

=0.043; AIC = 95.91), as well as CP in *in vitro* methods ($\text{CH}_4 = 59.98 - 3.22 \times \text{CP}$; $P = 0.010$; AIC = 111.50), EE in *in vivo* method ($\text{CH}_4 = 28.38 - 3.35 \times \text{EE}$; $P = 0.001$; AIC = 25.48). NDF content of diet increased CH_4 emissions in *in vitro* + *in vivo* ($\text{CH}_4 = 15.06 + 0.23 \times \text{NDF}$; $P = 0.016$; AIC = 477.37), and also separately in *in vivo* ($\text{CH}_4 = 18.47 + 0.21 \times \text{NDF}$; $P = 0.058$; AIC = 351.89) and *in vitro* method ($\text{CH}_4 = 4.17 + 0.31 \times \text{NDF}$; $P = 0.022$; AIC = 118.90) (Table 7).

There was a positive interaction between CT and CP in *in vivo* experiments ($\text{CH}_4 = 35.64 - 6.87 \times \text{CT} - 0.49 \times \text{CP} + 0.33 \times \text{CT} \times \text{CP}$; $P = 0.010$; AIC = 333.59), whereas in *in vitro* experiments, there was an isolated effect of CT ($\text{CH}_4 = 61.16 - 0.81 \times \text{CT} - 3.25 \times \text{CP}$; $P = 0.0061$; AIC = 110.68), but no interaction ($P = 0.2691$; AIC = 115.32) (Table 8).

4. Discussion

4.1. Condensed tannin versus CH_4 emissions

It has been suggested that CT can be used to minimize the environmental impact of ruminant production because CT can improve ruminal fermentation and mitigate CH_4 emissions (Ugbobu et al., 2019), depending mainly on the type, dose, and source of CT added to the diet (Verma et al., 2021; Aboagye et al., 2019). There are two mechanisms of CH_4 mitigation in ruminants through the inclusion of CT: 1) indirectly through a reduction in ruminal fiber fermentation, which decreases H_2 and acetate formations, and 2) directly through inhibition of methanogens growth (Tan et al., 2011; Bhatta et al., 2009; Beauchemin et al., 2007a; Carulla et al., 2005; Tavendale et al., 2005).

The phenolic hydroxyl groups of CT can bind to macromolecules (proteins, structural carbohydrates, and starch), to render them unavailable to ruminal microbes, forming complexes that are insoluble in the rumen (Oliveira et al., 2007). In the case of proteins, the complex reduces its ruminal degradability and thus the microbial growth, decreasing CH_4 production (Tedeschi et al., 2011). According to McAllister et al. (2005), the capacity of CT to bind carbohydrates and proteins depends on the plant from which it is extracted and on the molecular weight of CT, being greater with higher molecular weight (Aboagye et al., 2019).

Also, the effect of CT on microbial populations depends on the relative affinity of CT for feed vs. microbial protein. The affinity of CT for protozoa and methanogens may be important in methanogenesis due to the symbiotic role these populations have on CH_4 production (McAllister et al., 1996).

Biologically active CT can become an anti-nutritional factor because it reduces intake, fiber digestibility, and animal performance (McAllister et al., 2005; Pagán-Riestra et al., 2010). Nonetheless, within adequate doses (2-4% DM), these compounds can promote beneficial effects, mainly regarding ruminal fermentation and GHG emissions by ruminants (Martin et al., 2010). However, this relationship could be related to CT biological activity as much as quantity in the diet, which needs further study to establish ideal CT diet inclusion ranges to reduce CH₄ emissions with no effect on animal performance. Therefore, considering that only a fraction of all-natural CT is biologically active in forage plants, recommended ideal percentage ranges of CT inclusion in the meta-analysis are likely for the more aggressively biologically active CT.

Solving the prediction equation developed by our meta-analysis ($\text{CH}_4 = 26.89 - 2.54 \times \text{CT}$) using *in vitro* and *in vivo* methods, a minimum dose of 3.13% of CT in the diet is needed to decrease 1% of CH₄ emissions (L/kg DM). For *in vivo* only, we verified that a minimum dose of 2.32% of CT can decrease CH₄ emissions by 1%, according to the equation $\text{CH}_4 = 29.55 - 3.64 \times \text{CT}$. Considering the range Martin et al. (2010) reported, the maximum dose of 4% of CT could decrease CH₄ emissions by 7.5% for *in vitro* and *in vivo* methods, while only for the *in vivo* the same dose could reach a reduction of 17.7% of CH₄.

Naumann et al. (2015) also reported that CH₄ production decreased as CT concentration increased in the fermented substrate for *in vitro* experiments, with a nonlinear exponential decay regression equation of $\text{CH}_4 = 113.6 - 0.1751 \times \text{CT} - 2.18$. This equation predicted that CH₄ production could be reduced by approximately 50% when CT is 3.9% DM for *in vitro* experiments. Comparatively, using a CT inclusion of 3.9% DM, our equations indicate a reduction in CH₄ production of 6.3% for *in vitro* + *in vivo* experiments and 16.7% for *in vivo* experiments. The difference in CH₄ production between our meta-analysis and Naumann et al. (2015) might be associated with the CT biological activity, showing that equal concentrations of CT may impact ruminal CH₄ differently. Also, Naumann et al. (2015) found a greater variation in CH₄ produced by ruminal fermentation at CT concentrations less than or equal to 3% DM compared with CT concentrations greater than 3% DM.

As verified in our meta-analysis, many experiments showed that increasing the level of dietary CT leads to an apparent decrease in ruminal CH₄ emissions, measured *in vitro* and *in vivo* (Szczechowiak et al., 2016; Martello et al., 2020; Dias Batista et al., 2021; Min et al., 2021; Stewart et al., 2019; Beauchemin et al., 2007a; Ramírez-Restrepo et al., 2010; Waghorn et al., 2002; Tavendale et al., 2005). Saminathan et al. (2014) reported that the inhibition of rumen methanogenesis by CT fractions was most likely the result of the

decrease in CH₄, as there was no substantial reduction in DM degradability. A study by Tavendale et al. (2005) showed that CT fractions from *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa* decreased CH₄ production by inhibiting the growth of rumen methanogens. Additionally, Hariadi and Santoso (2010) verified a negative relationship between total CT and in vitro CH₄ production after 24 h of incubation in a study with different concentrations of tannins.

Similarly to our study, in the meta-analysis conducted by Orzuna-Orzuna et al. (2021), the addition of CT in the diet of beef cattle could be used as a sustainable natural alternative to reduce the environmental impact of beef production, especially regarding the CH₄ mitigation without affecting animal weight gain, feed intake or feed efficiency.

Some review articles have hypothesized that the presence of CT in the diet can negatively affect animal feed intake due to its astringent nature (Tedeschi et al., 2021; Huang et al., 2018; Pagán-Riestra et al., 2010). However, in the present meta-analysis, no changes in DMI were observed in response to dietary supplementation with CT, within doses between 0 and 124 g CT/kg DM. These results suggest that CT might be used in cattle diets without negative impacts on feed intake. However, CT effect on animal performance, such as weight gain or milk production, should be further researched since information on those parameters is not abundant compared to DMI or methanogenesis.

4.2. Condensed tannins versus nutrient digestibility

According to Min et al. (2003) and Soltan et al. (2012), the main effect of CT in the rumen is the formation of chemical complexes with proteins, reducing feed digestibility and protein ruminal degradation, and favoring the supply of undegradable protein to the small intestine. Additionally, CT can reduce OMD (Aghamohamadi et al., 2014), improving the supply of microbial protein and the efficiency of microbial nitrogen synthesis, which favors the increase in the utilization of microbial amino acids for weight gain and milk production (Dey and De, 2014).

Some studies also reported a decrease in OMD with increasing levels of CT in the diet. Piñeiro-Vázquez et al. (2017) reported that OMD linearly reduced by 18.4% as the concentration of CT in the ration was raised from 0 to 4% CT/kg DM. Barry and Duncan (1984), when comparing *Lotus pedunculatus* with low (45.6 g CT/kg DM) and high (105.9 g CT/kg DM) concentrations of CT, found that high concentrations of CT depressed metabolizable energy intake due to depressions in both the voluntary intake and OM digestion. Al-Jassim et al. (1998) verified that digestibility coefficients of all organic

constituents were lower for the acorn (*Quercus aegilops* and *Quercus coccifera*) diets, which is rich in tannins, a natural cellulolytic inhibitor, which has been reported in many wild plants, tropical trees, shrubs, and forage legumes browsed by ruminants (Jackson et al., 1996; Van Soest, 1982).

As reported in our meta-analysis, the studies conducted by Orzuna-Orzuna et al. (2021) and Herremans et al. (2020) also demonstrated a reduction in the digestibility of DM and other nutrients due to the supplementation with CT, attributing this result to its effect on the rumen microbial activity and the endogenous digestive enzyme activity.

4.3. Condensed tannins versus ruminal parameters

Similarly to our results, a meta-analysis by Orzuna-Orzuna et al. (2021) and a study by Dai and Faciola (2019) reported that tannins increased concentrations of butyrate and propionate in the rumen. The authors attributed this shift to the negative correlation of propionate and CH₄ emissions, which competes for H₂, and also associated the reduction in CH₄ emissions as a response to tannins supplementation.

Saminathan et al. (2014), evaluating five CT fractions from *Leucaena leucocephala* (decreasing levels of CT molecular weights, from 1265.8 to 469.6 g/mol), found that the inclusion of the highest CT fraction produced a significantly higher molar proportion of propionic acid when compared to the lowest fraction, but it was not different from control and intermediate fractions.

The increase in propionic acid production with higher molar weight CT verified in our meta-analysis occurred because propionate formation has become an alternative pathway for H₂ disposal in the rumen, thereby further restricting methanogenesis. Bhatta et al. (2009) also verified an increase in the molar proportion of propionate with a tannin binder, which reduced the ruminal pH. In our meta-analysis, however, even with the greater VFA and propionate productions, CT dietary inclusion had no effect on ruminal pH.

Beauchemin et al. (2007b) evaluated three levels of quebracho tannin extract (0, 1, and 2% of dietary DM) and found that butyrate concentration increased with the increasing level of tannin supplementation. Terrill et al. (1992) also reported that in sheep grazing pastures of *Lolium perenne*, *Trifolium repens*, and *Holcus lanatus*, polyethylene glycol supplementation, which neutralized CT biological activity, increased total butyrate proportions. This paralleled its effect in increasing ammonia concentration, a product of protozoal metabolism in sheep fed fresh forages with tannins (Van Soest, 1982).

There was no effect on acetic acid production in our meta-analysis. However, a decrease might have been expected due to the decrease in acetogenesis, a CO₂-reducing process to produce acetate, which is also a way to dispose of metabolic H₂ during microbial metabolism (Saminathan et al., 2014).

4.4. CH₄ emissions versus condensed tannins x ruminal parameters

Ruminant VFA and CH₄ production are strongly correlated to A/P ratio, which is dependent on the substrate and pH, meaning that a shift in the molar proportion of VFA, especially in the A/P ratio, can be reflected by changes in the gas production (Russell, 1998).

Similarly to our meta-analysis, Saminathan et al. (2014) found that the total CH₄ and the A/P ratio among the CT fractions were positively correlated, justifying that the decrease in CH₄ by increasing the level of CT fractions is due to a decrease in the A/P ratio, and it is also related to rumen microbial fermentation rather than being solely due to the direct inhibition of methanogens.

According to Moss et al. (2000), fiber digestion is commonly considered the major contributor to methanogenesis. In a study by Hindrichsen et al. (2005) evaluating dietary carbohydrate effects on CH₄ emissions from cows, the authors verified that sugar intake has a larger impact on the daily CH₄ production than cellulose and hemicelluloses, primarily due to the stimulation of a high molar proportion of butyrate by soluble sugars compared to starch.

Butyrate and acetate promote methanogenesis in the rumen, while propionate formation is a competitive pathway for H₂ utilization and will be stimulated when feed is predominantly composed of starch (Moss et al., 2000). Our meta-analysis verified that CT increases the molar proportion of propionate and butyrate, which, as stated by Tavendale et al. (2005), is negatively correlated to CH₄ production because of the competition for H₂, and associated with an increase in the flow of microbial protein from the rumen. Additionally, according to Vogels et al. (1980), the increase in VFA proportions toward acetic and butyric acids can be associated with protozoa, which facilitates the transfer of H₂ to archaea by a synergistic interaction between methanogens and ciliates.

Our meta-analysis showed that the CH₄ emissions are lower under higher levels of dietary CT and lower concentrations of N-NH₃. The supplementation with CT can reduce N-NH₃ concentration due to the binding of CT with protein, promoting a lower protein degradability in the rumen (Huang et al., 2010).

4.5. *CH₄ emissions versus dry matter intake*

The DMI is the primary driver of CH₄ production by ruminants (Jonker et al., 2020), and the relationship of DMI with enteric CH₄ emission has been extensively studied and is well-established (Hristov and Melgar, 2020). When including CT in the diet, however, our meta-analysis did not find any effects of DMI on CH₄ emissions, in contrast to Fagundes et al. (2020). These authors found a decrease in CH₄ emissions by beef cattle in response to dietary supplementation with CT, attributing the CH₄ reduction to a decrease in DMI rather than to the direct effects of CT on rumen methanogenic archaea.

4.6. *CH₄ emissions versus condensed tannins and diet components*

Our meta-analysis identified diet components that consistently affected enteric CH₄ production from ruminant livestock and developed a prediction model based on these components. The model that best described CH₄ yield included the diet components of CT, OM, CP, NDF, and EE.

Among various CH₄ mitigation strategies already researched, dietary manipulation appears to be one of the promising technologies to reduce CH₄ emissions from ruminants while improving, or at least maintaining, animal productivity (Haque et al., 2018; Martin et al., 2010). The amount and type of dietary carbohydrate fermented affect the rumen retention time of substrate, fermentation rate, and rates of production of acetate, propionate, and H₂. Also, adding fats to diets decreases enteric CH₄ emissions, although results are not always consistent and definitive (Beauchemin et al., 2008; McAllister et al., 1996). Besides inhibitory effects on methanogenesis, fats are often incorporated into diets to increase the energy density of high-yielding dairy cattle (Cosgrove et al., 2008).

Methanogens in the rumen are hydrogenotrophic (Kasuya and Takahashi, 2010). When H₂ accumulates in large quantities in the rumen, the proliferation and activities of rumen microorganisms are inhibited because of the high H₂ pressure. The generation of CH₄ by methanogens is important for rumen microorganisms because H₂ is harmful to the microorganisms. Fibrolytic bacteria that use structural carbohydrates such as cellulose and hemicelluloses produce this H₂, the primary substrate for methanogens and CO₂.

In a study conducted by Hammond et al. (2015), the authors found a lower CH₄ yield (g/kg of DMI) for the high maize silage diet compared to the high grass silage diet, attributing this result to the source of starch and NDF affecting rates of fermentation in the rumen, and stating that the starch is an effective method for reducing enteric CH₄ emissions (Beauchemin et al., 2008).

In this context, CH₄ production tends to increase as the fiber content of feed increases, especially the NDF (Kurihara et al. 1997; Johnson and Johnson 1995; Shibata et al. 1992). Since the amount of digested cellulose contributes more than the amount of other carbohydrate components to CH₄ production, and the conditions that promote microbial growth and propionate production in the rumen lead to reduce CH₄ production, high-concentrate feed produces less CH₄ than high-roughage feed in heifers, sheep and goats at near-maintenance feeding levels (Shibata and Terada, 2010; Shibata et al. 1992).

Our meta-analysis showed that the EE content of the diet decreases the CH₄ emissions by cattle. Fats inhibit methanogenesis by reducing the metabolic activity and numbers of ruminal methanogens and protozoa, reducing the quantity of feeds fermented in the rumen, and through competition for metabolic H₂ between CH₄ and propionate production during the biohydrogenation of unsaturated fatty acids (Beauchemin et al., 2009; Johnson and Johnson, 1995). As stated by McAllister et al. (1996), the presence of long-chain unsaturated fatty acids inhibits CH₄ production in the rumen in two ways: provision of an alternative metabolic H₂ acceptor to reduce CO₂ and direct toxic effects on ruminants' microorganisms.

Studies showed that several oils, including coconut oil and fish oil, inhibit ruminal protozoa growth, depressing a significant proportion of rumen methanogens (Patra, 2013; Machmüller et al., 2003). Therefore, the defaunation effect of fat supplementation could also explain a large part of the decreases in protozoa-associated methanogenesis in the rumen (Beauchemin et al., 2009). Additionally, since fats are not fermented in the rumen, it does not produce a surplus of H₂, and consequently, CH₄ production could be decreased due to the production of less H₂ per unit of feed when higher levels of fats are included in the diets.

Bell et al. (2016) verified a positive correlation between CH₄ and DOM, and a negative correlation between CH₄ and EE and feeding levels across sheep, beef cattle and dairy cows. This could be explained by the theory that a higher intake increases the fractional passage rate of feed through the rumen and reduces retention time, rumen digestion (dependent on the diet) and CH₄ yield (Ulyatt et al., 1997; Johnson and Johnson, 1995).

The *in vivo* study of Machmuller et al. (2003) also revealed that the extent of inhibition of methanogenesis by medium-chain fatty acids might be lowered with high content of fibrous carbohydrates in diets. While analyzing the interaction of individual fatty acid composition and NFC or NDF, it was evident that NFC negatively and NDF positively influenced CH₄ production. As verified in our meta-analysis, Patra (2013) also reported that CH₄ was influenced by the interaction of fatty acid composition and NDF content of diets.

Giger-Reverdin et al. (2003) found that CH₄ production (expressed as L/kg DMI of feed) decreased when the dietary EE content increased.

5. Conclusions

Condensed tannins are an efficient natural alternative to mitigate CH₄ emissions from bovines, reducing the environmental impact of cattle production. The addition of dietary CT can also increase the molar proportions of propionate, butyrate, and total VFA production.

Our meta-analysis identified diet components that significantly affect enteric CH₄ emissions by cattle and developed a prediction model based on these components, including CT, OM, CP, NDF, and EE. During *in vivo* CH₄ assays, there is an interaction between CT and CP content of the diet, affecting the CH₄ emissions.

Developing mathematical models based on variations in the chemical composition of the diet, levels of CT inclusion, CH₄ measurement methods (*in vivo* and *in vitro*), and considering the interactions among factors can improve the estimations of CH₄ emissions by ruminants and target specific ruminal CH₄ mitigation when correctly associating CT inclusion level and diet composition.

However, additional research, both in individual trials and meta-analysis, is needed to identify not simply ideal CT dietary content/concentration but also specific CT content based on feed source CT biological activity to predict CT efficacy alongside diet CT and nutrient contents. We hypothesize that the stronger the biological activity of CT, the lower the feed CT required to achieve CH₄ emission reduction while simultaneously avoiding DMI reduction and consequent animal performance decline.

Financial support statement

This work was supported by the São Paulo Research Foundation (FAPESP, grants n. 2019/25997-4; 2021/06521-9).

CRedit authorship contribution statement

A.S. Berça: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Funding acquisition; Investigation; Software; Roles/Writing – original draft. **L.O. Tedeschi:** Conceptualization, Methodology, Project administration, Supervision, Validation, Writing – review & editing. **A.S. Cardoso:** Visualization, Writing – review & editing. **R.A. Reis:** Resources, Supervision, Writing - review & editing.

Conflicts of Interest

We certify that there is no conflict of interest with any financial, personal, or other relationships with other people or organizations related to the material discussed in the manuscript.

Data availability

The data that support this study will be shared upon reasonable request to the corresponding author.

Acknowledgements

The authors would like to thank Sao Paulo Research Foundation (FAPESP) for providing financial support for the research.

References

- Abdalla, A.L., Soltan, Y.A., Silva, L.R., Louvandini, H., McManus, C.M., Lucas, R.C., Abdalla Filho, A.L., 2012. Good quality grass pasture decreases rumen methane production *in vitro*. In Proceedings of the ASA, CSSA, and SSSA international annual meetings (pp. 21-24).
- Aboagye, I.A., Beauchemin, K.A., 2019. Potential of molecular weight and structure of tannins to reduce methane emissions from ruminants: a review. *Animals*. 9, 856. <https://doi.org/10.3390/ani9110856>.
- Aboagye, I.A., Oba, M., Castillo, A.R., Koenig, K.M., Iwaasa, A.D., Beauchemin, K.A., 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. *J. Anim. Sci.* 96(12), 5276-5286. <https://doi.org/10.1093/jas/sky352>.
- Aghamohamadi, N., Hozhabri, F., Alipour, D. 2014. Effect of oak acorn (*Quercus persica*) on ruminal fermentation of sheep. *Small Rumin. Res.* 120, 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.04.015>.
- Ahnert, S., Dickhoefer, U., Schulz, F., Susenbeth, A. 2015. Influence of ruminal Quebracho tannin extract infusion on apparent nutrient digestibility, nitrogen balance, and urinary purine derivatives excretion in heifers. *Livest. Sci.* 177, 63-70. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.04.004>.

- akinwande, M. O., Dikko, H. G., & Samson, A. 2015. Variance inflation factor: as a condition for the inclusion of suppressor variable (s) in regression analysis. *Open Journal of Statistics*, 5(07), 754. <https://doi.org/10.4236/ojs.2015.57075> .
- Al-Jassim, R.A.M., Ereifej, K.I., Shibli, R.A., Abudabos, A. 1998. Utilization of concentrate diets containing acorns (*Quercus aegilops* and *Quercus coccifera*) and urea by growing Awassi lambs. *Small Rumin. Res.* 29, 289–293. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(97\)00124-7](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(97)00124-7).
- Alves, T.P., Dall-Orsoletta, A.C., Ribeiro-Filho, H.M.N. 2017. The effects of supplementing *Acacia mearnsii* tannin extract on dairy cow dry matter intake, milk production, and methane emission in a tropical pasture. *Trop. Anim. Health Prod.* 49(8), 1663-1668. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1374-9>.
- Anantasook, N., Wanapat, M., Cherdthong, A. 2014. Manipulation of ruminal fermentation and methane production by supplementation of rain tree pod meal containing tannins and saponins in growing dairy steers. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 98(1), 50-55. <https://doi.org/10.1111/jpn.12029>.
- Avila, A.S., Zambom, M.A., Faccenda, A., Fischer, M.L., Anschau, F.A., Venturini, T., Faciola, A.P. 2020. Effects of black wattle (*Acacia mearnsii*) condensed tannins on intake, protozoa population, ruminal fermentation, and nutrient digestibility in Jersey steers. *Animals*. 10(6), 1011. <https://doi.org/10.3390/ani10061011>.
- Barry, T.N., Duncan, S.J. 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep: 1. Voluntary intake. *Br. J. Nutr.* 51(3), 485-491. <https://doi.org/10.1079/BJN19840054>.
- Beauchemin, K.A., Kreuzer, M., O'Mara, F., McAllister, T.A. 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Aust. J. Exp. Agric.* 48(2), 21-27. <https://doi.org/10.1071/EA07199>.
- Beauchemin, K.A., McAllister, T.A., McGinn, S.M. 2009. Dietary mitigation of enteric methane from cattle. *CABI Reviews* 1-18. <https://doi.org/10.1079/PAVSNNR20094035>.
- Beauchemin, K.A., McGinn, S.M., Martinez, T.F., McAllister, T.A. 2007b. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 85(8), 1990-1996. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-686>.
- Beauchemin, K.A., McGinn, S.M., Petit, H.V. 2007a. Methane abatement strategies for cattle: Lipid supplementation of diets. *Canadian J. Anim. Sci.* 87(3), 431-440. <https://doi.org/10.4141/CJAS07011>.

- Bell, M., Eckard, R., Moate, P.J., Yan, T. 2016. Modelling the effect of diet composition on enteric methane emissions across sheep, beef cattle and dairy cows. *Animals*. 6(9), 54. <https://doi.org/10.3390/ani6090054>.
- Berça, A.S., Cardoso, A.S., Longhini, V.Z., Tedeschi, L.O., Boddey, R.M., Berndt, A., Reis, R.A., Ruggieri, A.C. 2019. Methane production and nitrogen balance of dairy heifers grazing palisade grass cv. Marandu alone or with forage peanut. *J. Anim. Sci.* 97: 4625-4634. <https://doi.org/10.1093/jas/skz310>.
- Bhatta, R., Uyeno, Y., Tajima, K., Takenaka, A., Yabumoto, Y., Nonaka, I., 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. *J. Dairy Sci.* 92(11), 5512-5522. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1441>.
- Bueno, I.C., Brandi, R.A., Franzolin, R., Benetel, G., Fagundes, G.M., Abdalla, A.L., Muir, J.P. 2015. *In vitro* methane production and tolerance to condensed tannins in five ruminant species. *Anim. Feed Sci. Technol.* 205, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.03.008>.
- Carulla, J.E., Kreuzer, M., Machmüller, A., Hess, H.D. 2005. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 56(9), 961-970. <https://doi.org/10.1071/AR05022>.
- Chen, L., Bao, X., Guo, G., Huo, W., Xu, Q., Wang, C., Qinghong K., Liu, Q. 2021. Effects of hydrolysable tannin with or without condensed tannin on alfalfa silage fermentation characteristics and *in vitro* ruminal methane production, fermentation patterns, and microbiota. *Animals* 11(7), 1967. <https://doi.org/10.3390/ani11071967>.
- Cieslak, A., Zmora, P., Pers-Kamczyc, E., Szumacher-Strabel, M. 2012. Effects of tannins source (*Vaccinium vitis idaea* L.) on rumen microbial fermentation *in vivo*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 176(1-4), 102-106. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.012>.
- Cosgrove, G.P., Waghorn, G.C., Anderson, C.B., Peters, J.S., Smith, A., Molano, G., Deighton, M. 2008. The effect of oils fed to sheep on methane production and digestion of ryegrass pasture. *Aust. J. Exp. Agric.* 48(2), 189-192. <https://doi.org/10.1071/EA07279>.
- de Oliveira, S.G., Berchielli, T.T., dos Santos Pedreira, M., Primavesi, O., Frighetto, R., Lima, M.A. 2007. Effect of tannin levels in sorghum silage and concentrate supplementation on apparent digestibility and methane emission in beef cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 135(3-4), 236-248. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.07.012>.

- Dey, A., De, P.S. 2014. Influence of condensed tannins from *Ficus bengalensis* leaves on feed utilization, milk production and antioxidant status of crossbred cows. Asian-australas J. Anim. Sci. 27(3), 342. <https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13295>.
- Dias Batista, L.F., Rivera, M.E., Norris, A.B., Muir, J.P., Fonseca, M.A., Tedeschi, L.O. 2021. The influence of extended supplementation of quebracho extract to beef steers consuming a hay diet on digestion, ruminal, and blood parameters. J. Anim. Sci. 99(5), skab074. <https://doi.org/10.1093/jas/skab074>.
- Dschaak, C.M., Williams, C.M., Holt, M.S., Eun, J.S., Young, A.J., Min, B.R. 2011. Effects of supplementing condensed tannin extract on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 94(5), 2508-2519. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3818>.
- Ebert, P.J., Bailey, E.A., Shreck, A.L., Jennings, J.S., Cole, N.A. 2017. Effect of condensed tannin extract supplementation on growth performance, nitrogen balance, gas emissions, and energetic losses of beef steers. J. Anim. Sci. 95(3), 1345-1355. <https://doi.org/10.2527/jas.2016.0341>.
- EPA - Environmental Protection Agency. 2021. Inventory of U.S. Greenhouse Gas Emissions and Sinks: 1990-2019. No. 430-P-21-005. Environmental Protection Agency, Washington, DC. 791p. Available at: <https://www3.epa.gov/climatechange/ghgemissions/usinventoryreport.html>. Accessed on: March 4, 2022.
- Fagundes, G.M., Benetel, G., Welter, K.C., Melo, F.A., Muir, J.P., Carriero, M.M., Bueno, I.C. 2020. Tannin as a natural rumen modifier to control methanogenesis in beef cattle in tropical systems: friend or foe to biogas energy production?. Res. Vet. Sci. 132, 88-96. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.05.010>.
- Fagundes, G.M.; Benetel, G.; Welter, K.C.; Melo, F.A.; Muir, J.P.; Carriero, M.M.; Souza, R.L.M.; Meo-Filho, P.; Frighetto, R.T.S.; Berndt, A.; et al. Tannin as a natural rumen modifier to control methanogenesis in beef cattle in tropical systems: Friend or foe to biogas energy production? Res. Vet. Sci. 2020, 132, 82–93.
- Focant, M., Froidmont, E., Archambeau, Q., Van, Q.D., Larondelle, Y. 2019. The effect of oak tannin (*Quercus robur*) and hops (*Humulus lupulus*) on dietary nitrogen efficiency, methane emission, and milk fatty acid composition of dairy cows fed a low-protein diet including linseed. J. Dairy Sci. 102(2), 1144-1159. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15479>.

- Giger-Reverdin, S., Morand-Fehr, P., Tran, G. 2003. Literature survey of the influence of dietary fat composition on methane production in dairy cattle. *Livest. Prod. Sci.* 82(1), 73-79. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(03\)00002-2](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(03)00002-2).
- Hammond, K.J., Humphries, D.J., Crompton, L.A., Green, C., Reynolds, C.K. 2015. Methane emissions from cattle: estimates from short-term measurements using a GreenFeed system compared with measurements obtained using respiration chambers or sulphur hexafluoride tracer. *Anim. Feed Sci. Technol.* 203, 41-52. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.02.008>.
- Hariadi, B. T., Santoso, B. 2010. Evaluation of tropical plants containing tannin on *in vitro* methanogenesis and fermentation parameters using rumen fluid. *J. Sci. Food Agric.* 90(3), 456-461. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3839>.
- Hart, K.J., Yáñez-Ruiz, D.R., Duval, S.M., Mcewan, N.R., Newbold, C.J. 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147(1-3), 8-35. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.09.007>.
- Herremans, S., Vanwindekens, F., Decruyenaere, V., Beckers, Y., Froidmont, E. 2020. Effect of dietary tannins on milk yield and composition, nitrogen partitioning and nitrogen use efficiency of lactating dairy cows: A metanalysis. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 104, 1209–1218. <https://doi.org/10.1111/jpn.13341>.
- Hess, H.D., Mera, M.L., Tiemann, T.T., Lascano, C.E., Kreuzer, M. 2008. *In vitro* assessment of the suitability of replacing the low-tannin legume *Vigna unguiculata* with the tanniniferous legumes *Leucaena leucocephala*, *Flemingia macrophylla* or *Calliandra calothyrsus* in a tropical grass diet. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147(1-3), 105-115. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.09.012>.
- Hindrichsen, I.K., Wettstein, H.R., Machmüller, A., Jörg, B., Kreuzer, M. 2005. Effect of the carbohydrate composition of feed concentrates on methane emission from dairy cows and their slurry. *Environ. Monit. Assess.* 107(1), 329-350. <https://doi.org/10.1007/s10661-005-3008-3>.
- Hristov, A., & Melgar, A. 2020. Short communication: Relationship of dry matter intake with enteric methane emission measured with the GreenFeed system in dairy cows receiving a diet without or with 3-nitrooxypropanol. *Animal*, 14(S3), S484-S490. <https://doi.org/10.1017/S1751731120001731>
- Huang, X.D., Liang, J.B., Tan, H.Y., Yahya, R., Khamseekhiew, B., Ho, Y.W. 2010. Molecular weight and protein binding affinity of *Leucaena* condensed tannins and their

- effects on *in vitro* fermentation parameters. Anim. Feed Sci. Technol. 159, 81–87. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.05.008>.
- Huyen, N.T., Desrues, O., Alferink, S.J.J., Zandstra, T., Verstegen, M.W.A., Hendriks, W.H., Pellikaan, W.F. 2016. Inclusion of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) silage in dairy cow rations affects nutrient digestibility, nitrogen utilization, energy balance, and methane emissions. J. Dairy Sci. 99(5), 3566-3577. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10583>.
- Ishlak, A., Günal, M., AbuGhazaleh, A.A. 2015. The effects of cinnamaldehyde, monensin and quebracho condensed tannin on rumen fermentation, biohydrogenation and bacteria in continuous culture system. Anim. Feed Sci. Technol. 207, 31-40. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.05.023>.
- Jackson, F.S., Barry, T.N., Lascano, C., Palmer, B. 1996. The extractable and bound condensed tannins content of leaves from tropical tree, shrub and forage legumes. J. Sci. Food Agric. 71, 103–110. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199605\)71:1<103::AID-JSFA554>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199605)71:1<103::AID-JSFA554>3.0.CO;2-8).
- Johnson, K.A.; Johnson, D.E. 1995. Methane emissions from cattle. J. Anim. Sci. 73, 2483–2492. <https://doi.org/10.2527/1995.7382483x>.
- Jolazadeh, A.R., Dehghan-Banadaky, M., Rezayazdi, K. 2015. Effects of soybean meal treated with tannins extracted from pistachio hulls on performance, ruminal fermentation, blood metabolites and nutrient digestion of Holstein bulls. Anim. Feed Sci. Technol. 203, 33-40. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.02.005>.
- Jonker, A., Green, P., Waghorn, G., van der Weerden, T., Pacheco, D., & de Klein, C. (2018). A metanalysis comparing four measurement methods to determine the relationship between methane emissions and dry-matter intake in New Zealand dairy cattle. Animal Production Science, 60(1), 96-101. <https://doi.org/10.1071/AN18573>
- Kasuya, H., & Takahashi, J. 2010. Methane emissions from dry cows fed grass or legume silage. Asian-Australasian J. Anim. Sci. 23(5), 563-566. <https://doi.org/10.5713/ajas.2010.90488>.
- Khiaosa-Ard, R., Bryner, S.F., Scheeder, M.R.L., Wettstein, H.R., Leiber, F., Kreuzer, M., Soliva, C.R. 2009. Evidence for the inhibition of the terminal step of ruminal α -linolenic acid biohydrogenation by condensed tannins. J. Dairy Sci. 92(1), 177-188. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1117>.
- Krueger, W.K., Gutierrez-Bañuelos, H., Carstens, G.E., Min, B.R., Pinchak, W.E., Gomez, R.R., Forbes, T.D.A. 2010. Effects of dietary tannin source on performance, feed efficiency, ruminal fermentation, and carcass and non-carcass traits in steers fed a

- high-grain diet. Anim. Feed Sci. Technol. 159(1-2), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.05.003>.
- Kurihara, M., Shibata, M., Nishida, T., Purnomoadi, A., Terada, F. 1997. Methane production and its dietary manipulation in ruminants. In: Rumen microbes and digestive physiology in ruminants. 199-208.
- Machmüller, A., Soliva, C.R., Kreuzer, M. 2003. Methane-suppressing effect of myristic acid in sheep as affected by dietary calcium and forage proportion. Br. J. Nutr. 90(3), 529-540. <https://doi.org/10.1079/BJN2003932>.
- Martello, H.F., De Paula, N.F., Teobaldo, R.W., Zervoudakis, J.T., Fonseca, M.A., Cabral, L. S., Rocha, J.K.L., Moraes, E.H.B.K. 2020. Interaction between tannin and urea on nitrogen utilization by beef cattle grazing during the dry season. Livest. Sci. 234, 103988. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.103988>.
- Martin, C., Morgavi, D.P., Doreau, M. 2010. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. Animal. 4(3), 351-365. <https://doi.org/10.1017/S1751731109990620>.
- McAllister, T.A., Cheng, K.J., Okine, E.K., Mathison, G.W. 1996. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. Canadian J. Anim. Sci. 76(2), 231-243. <https://doi.org/10.4141/cjas96-035>.
- McAllister, T.A., Martinez, T., Bae, H.D., Muir, A.D., Yanke, L.J., Jones, G.A. 2005. Characterization of condensed tannins purified from legume forages: chromophore production, protein precipitation, and inhibitory effects on cellulose digestion. J. Chem. Ecol. 31(9), 2049-2068. <https://doi.org/10.1007/s10886-005-6077-4>.
- Mezzomo, R., Paulino, P.V.R., Detmann, E., Valadares Filho, S.C., Paulino, M.F., Monnerat, J. P.I.S., Duarte, M.S., Moura, L. S. 2011. Influence of condensed tannin on intake, digestibility, and efficiency of protein utilization in beef steers fed high concentrate diet. Livest. Sci. 141(1), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.04.004>.
- Mills, J.A.N., Dijkstra, J., Bannink, A., Cammell, S.B., Kebreab, E., France, J. 2001. A mechanistic model of whole-tract digestion and methanogenesis in the lactating dairy cow: model development, evaluation, and application. J. Anim. Sci. 79(6), 1584-1597. <https://doi.org/10.2527/2001.7961584x>.
- Min, B.R., Pinchak, W.E., Hume, M.E., Anderson, R.C. 2021. Effects of condensed tannins supplementation on animal performance, phylogenetic microbial changes, and *in vitro* methane emissions in steers grazing winter wheat. Animals. 11(8), 2391. <https://doi.org/10.3390/ani11082391>.

- Min, B.R.; Barry, T.N.; Attwood, G.T.; McNabb, W.C. 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 106, 3–19. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(03\)00041-5](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(03)00041-5).
- Mølbak, K. 2004. Spread of resistant bacteria and resistance genes from animals to humans—the public health consequences. *J. Vet. Med.* 51(8-9), 364-369. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.2004.00788.x>.
- Molina-Botero, I.C., Arroyave-Jaramillo, J., Valencia-Salazar, S., Barahona-Rosales, R., Aguilar-Pérez, C.F., Burgos, A.A., Arango, K., Ku-Vera, J.C. 2019. Effects of tannins and saponins contained in foliage of *Gliricidia sepium* and pods of *Enterolobium cyclocarpum* on fermentation, methane emissions and rumen microbial population in crossbred heifers. *Anim. Feed Sci. Technol.* 251, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.01.011>.
- Moss, A.R., Jouany, J.P., Newbold, J. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. In *Annales de Zootechnie* 49(3), 231-253.
- Muir, J.P., Terrill, T., Valencia, E., Stuart, W., Jones, P.D., Mosjidis, J., Wolfe, R. 2009. The wide range of condensed tannins in Caribbean Basin plants and their applicability to ruminant production systems. In: *Annual Meeting Of The Caribbean Food Crops Society*, 45. St. Kitts and Nevis. Proceedings... St. Kitts and Nevi: Caribbean Food Crops Society 46-52.
- Naumann, H. D., L. O. Tedeschi, and M. A. Fonseca. 2015. Technical Note: Predicting ruminal methane inhibition by condensed tannins using nonlinear exponential decay regression analysis. *J. Anim. Sci.* 93 (11):5341-5345. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-9434>.
- Norris, A.B., Crossland, W.L., Tedeschi, L.O., Foster, J.L., Muir, J.P., Pinchak, W.E., Fonseca, M.A. 2020. Inclusion of quebracho tannin extract in a high-roughage cattle diet alters digestibility, nitrogen balance, and energy partitioning. *J. Anim. Sci.* 98(3), skaa047. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa047>.
- Norris, A.B.; Tedeschi, L.O.; Foster, J.L.; Muir, J.P.; Pinchak, W.E.; Fonseca, M.A. 2020. AFST: Influence of quebracho tannin extract fed at differing rates within a high-roughage diet on the apparent digestibility of dry matter and fiber, nitrogen balance and fecal gas flux. *Anim. Feed Sci. Technol.* 260, 114-365. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114365>.
- Orzuna-Orzuna, J.F., Dorantes-Iturbide, G., Lara-Bueno, A., Mendoza-Martínez, G.D., Miranda-Romero, L.A., Hernández-García, P.A. 2021. Effects of dietary tannins'

- supplementation on growth performance, rumen fermentation, and enteric methane emissions in beef cattle: a metanalysis. *Sustainability*. 13(13), 7410. <https://doi.org/10.3390/su13137410>.
- Pagán-Riestra, S.; Muir, J.P.; Lambert, B.D.; Tedeschi, L.O.; Redmon, L.A. 2010. Phosphorus and other nutrient disappearance from plants containing condensed tannins using the mobile nylon bag technique. *Anim. Feed Sci. Technol.* 156, 19-25. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.12.006>.
- Patra, AK 2013. The effect of dietary fats on methane emissions, and its other effects on digestibility, rumen fermentation and lactation performance in cattle: A metanalysis. *Livest. Sci.* 155(2-3), 244-254. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.05.023>.
- Piñeiro-Vázquez, A.T., Canul-Solis, J.R., Alayón-Gamboa, J.A., Chay-Canul, A.J., Ayala-Burgos, A.J., Solorio-Sánchez, F.J., Aguillar-Pérez, C.F., Ku-Vera, J.C. 2017. Energy utilization, nitrogen balance and microbial protein supply in cattle fed *Pennisetum purpureum* and condensed tannins. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 101(1), 159-169. <https://doi.org/10.1111/jpn.12436>.
- Piñeiro-Vázquez, A.T., Canul-Solis, J.R., Jiménez-Ferrer, G.O., Alayón-Gamboa, J.A., Chay-Canul, A.J., Ayala-Burgos, A.J., Aguilar-Pérez, C.G., Ku-Vera, J.C. 2018. Effect of condensed tannins from *Leucaena leucocephala* on rumen fermentation, methane production and population of rumen protozoa in heifers fed low-quality forage. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.*, 31(11), 1738. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0192>.
- Poblete, J.B., Angeles, A.A., Agbisit Jr, E.M., Espaldon, M.V.O. 2020. Response of growing dairy bulls to dietary tannin in rations with varying energy levels. *Trop. J. Anim. Sci.* 43(1), 50-56. <https://doi.org/10.5398/tasj.2020.43.1.50>.
- Poornachandra, K.T., Malik, P. K., Dhali, A., Kolte, A. P., Bhatta, R. 2019. Effect of combined supplementation of tamarind seed husk and soapnut on enteric methane emission in crossbred cattle. *Carbon Manag.* 10(5), 465-475. <https://doi.org/10.1080/17583004.2019.1640136>.
- Riestra, S.P., Muir, J.P., Lambert, B.D., Tedeschi, L.O., Redmon, L.A. 2010. Phosphorus and other nutrient disappearance from plants containing condensed tannins using the mobile nylon bag technique. *Anim. Feed Sci. Technol.* 156(1-2), 19-25. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.12.006>.
- Salazar, S.S.V., Vázquez, A.T.P., Botero, I.C.M., Balbuena, F.J.L., Narváez, J.J.U., Campos, M.R.S., Avilés, L.R., Solorio Sánchez, F.J., Vera, J.C.K. 2018. Potential of

- Samanea saman* pod meal for enteric methane mitigation in crossbred heifers fed low-quality tropical grass. *Agric. For. Meteorol.* 258, 108-116. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2017.12.262>.
- Saminathan, M., Sieo, C.C., Abdullah, N., Wong, C.M.V.L., Ho, Y.W. 2015. Effects of condensed tannin fractions of different molecular weights from a *Leucaena leucocephala* hybrid on *in vitro* methane production and rumen fermentation. *J. Sci. Food Agric.* 95(13), 2742-2749. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7016>.
- Shakeri, P., Riasi, A., Alikhani, M. 2014. Effects of long period feeding pistachio by-product silage on chewing activity, nutrient digestibility and ruminal fermentation parameters of Holstein male calves. *Animal*, 8(11), 1826-1831. <https://doi.org/10.1017/S1751731114001621>.
- Shibata, M., Terada, F. 2010. Factors affecting methane production and mitigation in ruminants. *J. Anim. Sci.* 81(1), 2-10. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2009.00687.x>.
- Smith, A.H.; Zoetendal, E.; Mackie, R.I. 2005. Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. *Microbial Ecology* 50(2), 197-205. <https://doi.org/10.1007/s00248-004-0180-x>.
- Stewart, E.K., Beauchemin, K.A., Dai, X., MacAdam, J.W., Christensen, R.G., Villalba, J.J. 2019. Effect of tannin-containing hays on enteric methane emissions and nitrogen partitioning in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 97(8), 3286-3299. <https://doi.org/10.1093/jas/skz206>.
- Szczechowiak, J., Szumacher-Strabel, M., El-Sherbiny, M., Pers-Kamczyc, E., Pawlak, P., Cieslak, A. 2016. Rumen fermentation, methane concentration and fatty acid proportion in the rumen and milk of dairy cows fed condensed tannin and/or fish-soybean oils blend. *Anim. Feed Sci. Technol.* 216, 93-107. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.03.014>.
- Tan, H.Y., Sieo, C.C., Abdullah, N., Liang, J.B., Huang, X.D., Ho, Y.W. 2011. Effects of condensed tannins from *Leucaena* on methane production, rumen fermentation and populations of methanogens and protozoa *in vitro*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 169(3-4), 185-193. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.07.004>.
- Tavendale, M.H., Meagher, L.P., Pacheco, D., Walker, N., Attwood, G.T., 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. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123, 403-419.
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.037>.
- Team RC 2018. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Available online: <https://www.R-project.org/>.
- Tedeschi, L.O. 2006. Assessment of the adequacy of mathematical models. *Agric. Syst.* 89(2-3), 225-247.
- Tedeschi, L.O., Abdalla, A.L., Álvarez, C., Anuga, S.W., Arango, J., Beauchemin, K.A., Becquet, P., Berndt, A., Burns, R., Camillis, C., Chara, J., Echazarreta, J.M., McClelland, S.C., Niu, M., Onyango, A.A., Parajuli, R., Pereira, L.G.R., Prado, A., Tieri, M.P., Uwizeye, A., Kebreab, E. 2022. Quantification of methane emitted by ruminants: a review of methods. *J. Anim. Sci.* 100(7), skac197.
<https://doi.org/10.1093/jas/skac197>.
- Tedeschi, L.O., and D. G. Fox. 2020. *The Ruminant Nutrition System: Volume I - An Applied Model for Predicting Nutrient Requirements and Feed Utilization in Ruminants.* (3rd ed.). XanEdu, Ann Arbor, MI.
- Tedeschi, L.O., Callaway, T.R., Muir, J.P., Anderson, RC. 2011. Potential environmental benefits of feed additives and other strategies for ruminant production. *Rev. Bras. Zootec.* 40, 291-309. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.628445>.
- Tedeschi, L.O., Fox, D.G., Tylutki, T.P. 2003. Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. *J. Environ. Qual.* 32(5), 1591-1602.
<https://doi.org/10.2134/jeq2003.1591>.
- Tedeschi, L.O., Muir, J. P., Naumann, H. D., Norris, A. B., Ramírez-Restrepo, C. A., & Mertens-Talcott, S. U. 2021. Nutritional aspects of ecologically relevant phytochemicals in ruminant production. *Front. Vet. Sci.* 8, 628445.
- Tedeschi, L.O., Muir, J.P., Naumann, H.D., Norris, A.B., Ramírez-Restrepo, C.A., Mertens-Talcott, S.U. 2018. Nutritional Aspects of Ecologically Relevant Phytochemicals in Ruminant Production. *Front. Vet. Sci.* 8, 628445.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2021.628445>.
- Terrill, T.H., Rowan, A.M., Douglas, G.B., Barry, T.N. 1992. Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. *J. Sci. Food Agric.* 58(3), 321-329.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.2740580306>.
- Tseu, R.J., Perna Junior, F., Carvalho, R.F., Sene, G.A., Tropaldi, C.B., Peres, A.H., Rodrigues, P.H.M. 2020. Effect of tannins and monensin on feeding behaviour, feed

- intake, digestive parameters and microbial efficiency of Nellore cows. *Italian J. Anim. Sci.* 19(1), 262-273. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1729667>.
- Ugbogu, E.A., Elghandour, M.M.M.Y., Ikpeazu, V.O., Buendía, G.R., Molina, O.M., Arunsi, U.O., Emmanuel, O., Salem, A.Z.M. 2019. The potential impacts of dietary plant natural products on the sustainable mitigation of methane emission from livestock farming. *J. Clean. Prod.* 213, 915–925. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.12.233>.
- Ulyatt, M.J.; Lassey, K.R.; Martin, R.J.; Walker, C.F.; Shelton, I.D. 1997. Methane emission from grazing sheep and cattle. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 57, 130–133.
- Van Soest, P.J. 1982. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. O and B Books, Corvallis, OR, USA, 132–134.
- Verma, S., Taube, F., Malisch, C.S. 2021. Examining the variables leading to apparent incongruity between antimethanogenic potential of tannins and their observed effects in ruminants - a review. *Sustainability* 13, 2743. <https://doi.org/10.3390/su13052743>.
- Vogels, G.D., Hoppe, W.F., Stumm, C.K. 1980. Association of methanogenic bacteria with rumen ciliates. *Appl. Environ. Microbiol.* 40(3), 608-612. <https://doi.org/10.1128/aem.40.3.608-612.1980>.
- Yang, K., Wei, C., Zhao, G.Y., Xu, Z.W., Lin, S.X. 2017. Effects of dietary supplementing tannic acid in the ration of beef cattle on rumen fermentation, methane emission, microbial flora and nutrient digestibility. *Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 101(2), 302-310. <https://doi.org/10.1111/jpn.12531>.

Table 1. Summary of studies included in the meta-analysis of condensed tannins and methane emissions.

Study n°	Reference	Animal category	Tannin source	% Tannin	CH ₄ measurement	CH ₄ methodology
1	Cieslak et al., 2012	Dairy Cattle	<i>Vaccinium vitis idaea</i>	0 to 0.2	<i>in vivo</i>	-
2	Tan et al., 2011	Beef Cattle	<i>Leucaena leucocephala</i>	0 to 6.2	<i>in vitro</i>	Gas chromatography
3	Szzechowiak et al., 2016	Dairy Cattle	<i>Vaccinium vitis idaea</i>	0 to 3.7	<i>in vitro</i>	RUSITEC
4	Bueno et al., 2015	Dairy and Beef	<i>Acacia molissima</i>	0 to 5.0	<i>in vitro</i>	Gas chromatography
5	Beauchemin et al., 2007	Beef Cattle	<i>Quebracho extract (Schinopsis quebracho-colorado)</i>	0 to 1.8	<i>in vivo</i>	Open circuit chamber
6	Stewart et al., 2019	Beef Cattle	<i>Lotus corniculatus; Bromis riparius; Onobrychis viciifolia; Astragalus cicer</i>	0 to 2.5	<i>in vivo</i>	SF ₆ technique
7	Aboagye et al., 2018	Beef Cattle	<i>Quebracho extract</i>	0 to 0.7	<i>in vivo</i>	SF ₆ technique
8	Ahnert et al., 2015	Dairy Cattle	<i>Quebracho extract</i>	0 to 0.8	<i>in vivo</i>	-
9	Yang et al., 2017	Beef Cattle	Tannic Acid ¹	0 to 2.6	<i>in vivo</i>	Open circuit chamber
10	Tseu et al., 2020	Beef Cattle	<i>Acacia mearnsii</i>	0 to 0.9	<i>in vivo</i>	-
11	Norris et al., 2020	Beef Cattle	<i>Quebracho extract</i>	0 to 3.6	<i>in vivo</i>	Open circuit chamber
12	Avila et al., 2020	Dairy Cattle	<i>Acacia mearnsii</i>	0 to 2.5	<i>in vivo</i>	-
13	Piñeiro-Vazquez et al., 2017	Beef Cattle	<i>Quebracho extract</i>	0 to 4.0	<i>in vivo</i>	Open circuit chamber
14	Martello et al., 2020	Beef Cattle	<i>Quebracho extract</i>	0 to 0.2	<i>in vitro</i>	IVGP ²
15	Poblete et al., 2020	Dairy Cattle	<i>Acacia mearnsii</i>	0 to 0.3	<i>in vitro</i>	IVGP
16	Alves et al., 2017	Dairy Cattle	<i>Acacia mearnsii</i>	0 to 0.7	<i>in vivo</i>	SF ₆ technique
17	Fagundes et al., 2020	Beef Cattle	<i>Acacia mearnsii</i>	0 to 8.3	<i>in vivo</i>	SF ₆ technique
18	Mezzomo et al., 2011	Beef Cattle	<i>Quebracho extract</i>	0 to 0.3	<i>in vivo</i>	-
19	Focant et al., 2018	Dairy Cattle	<i>Quercus robur and Quercus petraea</i>	0 to 0.9	<i>in vivo</i>	SF ₆ technique
20	Piñeiro-Vazquez et al., 2018	Beef Cattle	<i>Leucaena leucocephala</i>	0 to 1.7	<i>in vivo</i>	Open circuit chamber
21	Chen et al., 2021	Beef Cattle	<i>Quebracho tannin</i>	0 to 2.5	<i>in vitro</i>	IVGP
22	Min et al., 2021	Beef Cattle	<i>Quebracho extract</i>	0 to 0.7	<i>in vivo</i>	Open circuit chamber
23	Dias Batista et al., 2021	Beef Cattle	<i>Quebracho extract</i>	0 to 2.1	<i>in vitro</i>	IVGP
24	Ahnert et al., 2015	Dairy Cattle	<i>Quebracho extract</i>	0 to 0.8	<i>in vivo</i>	-

25	Anantasook et al., 2014	Dairy Steers	<i>Samanea saman</i>	0 to 0.4	<i>in vivo</i>	Gas chromatography
26	Dschaak et al., 2011	Dairy Cattle	<i>Quebracho extract</i>	0 to 3.0	<i>in vivo</i>	-
27	Ebert et al., 2016	Beef Cattle	<i>Quebracho extract</i>	0 to 1.0	<i>in vivo</i>	GreenFeed system
28	Ishlak et al., 2015	Dairy Cattle	<i>Quebracho extract</i>	0 to 7.0	<i>in vitro</i>	-
29	Jolazadeh et al., 2015	Dairy Cattle	<i>Pistacia vera</i>	0 to 10.8	<i>in vivo</i>	-
30	Bhatta et al., 2009	Dairy cattle	<i>Quebracho extract</i>	0 to 3.7	<i>in vitro</i>	IVGP
31	Huyen et al., 2016	Dairy cattle	<i>Onobrychis viciifolia</i>	0 to 0.9	<i>in vivo</i>	Open circuit chamber
32	Molina-Botero et al., 2019	Beef Cattle	<i>Gliricidia sepium</i> - 45.9 mg/g	0 to 2.0	<i>in vivo</i>	Open-circuit chambers
33	Oliveira et al., 2007	Beef Cattle	<i>Sorghum silage IF305</i>	0 to 0.1	<i>in vivo</i>	SF ₆ technique
34	Onanong Pongchompu et al., 2009	Dairy Cattle	<i>Garcinia mangostana</i>	0 to 12.1	<i>in vivo</i>	Gas chromatography
35	Poornachandra et al., 2019	Dairy Cattle	<i>Tamarindus indica</i>	0 to 0.7	<i>in vivo</i>	SF ₆ technique
36	Salazar et al., 2018	Beef Cattle	<i>Samanea saman</i>	0 to 0.4	<i>in vivo</i>	Open circuit chambers
37	Khiaosa-Ard et al., 2008	Dairy Cattle	<i>Acacia mearnsii</i>	0 to 7.9	<i>in vitro</i>	RUSITEC
38	Hess et al., 2007	Beef Cattle	<i>Leucaena leucocephala</i>	0 to 31.1	<i>in vitro</i>	RUSITEC
39	Shakeri et al., 2014	Dairy Cattle	<i>Pistacia vera</i> (by-product silage)	0 to 18.2	<i>in vivo</i>	-
40	Krueger et al., 2010	Beef Cattle	<i>Acacia mearnsii</i>	0 to 1.5	<i>in vivo</i>	-

¹ purity 99.9%, Sinopharm Chemical Reagent Company, Shanghai, China ² IVGP: *in vitro* gas production.

Table 2. Regression equations of CH₄ emissions (L/kg DM) of cattle supplemented with condensed tannins.

Regression	Source	Intercept	CT	SEM	AIC	P-value		RMSE
						Intercept	CT	
CH ₄ (L/kg DM) = CT (g/kg DM)	<i>is</i> + <i>iv</i>	26.89	-2.55	3.261	455.01	<0.001	0.001	8.51
	<i>is</i>	29.55	-3.64	3.413	327.87	<0.001	0.000	8.11
	<i>iv</i>	19.98	-0.82	2.510	119.16	0.006	0.132	7.30

CH₄ = methane; CT = condensed tannins; *is* = *in vivo*; *iv* = *in vitro*; SEM = standard error of mean; AIC

= Akaike information criterion; RMSE = root mean squared error.

Table 3. Regression equations of nutrient digestibility of cattle supplemented with condensed tannins.

Regression	Source	Intercept	CT	SEM	AIC	P-value		RMSE
						Intercept	CT	
DMD (%) = CT (g/kg DM)	<i>is + iv</i>	64.53	-0.50	3.526	597.62	<0.001	0.107	6.15
	<i>is</i>	61.85	-1.34	3.098	256.00	<0.001	0.070	5.22
	<i>iv</i>	66.05	-0.18	5.470	147.42	<0.001	0.672	7.19
OMD (%) = CT (g/kg DM)	<i>is + iv</i>	67.18	-1.08	2.750	503.78	<0.001	0.010	5.73
	<i>is</i>	64.87	-2.02	3.369	267.29	<0.001	0.003	5.71
	<i>iv</i>	67.96	-0.55	1.483	51.33	<0.001	0.274	3.22
NDFD (%) = CT (g/kg DM)	<i>is + iv</i>	54.55	-0.44	4.879	638.32	<0.001	0.150	8.92
	<i>is</i>	54.85	-2.46	5.654	272.15	<0.001	0.067	8.62
	<i>iv</i>	53.97	-0.22	3.480	142.90	<0.001	0.438	11.87

CT = condensed tannins; DMD = dry matter digestibility; OMD = organic matter digestibility; NDFD = neutral detergent fiber digestibility; *is* = *in vivo*; *iv* = *in vitro*; SEM = standard error of mean; AIC = Akaike information criterion; RMSE = root mean squared error.

Table 4. Regression equations of ruminal parameters of cattle supplemented with condensed tannins.

Regression	Source	Intercept	CT	SEM	AIC	P-value		RMSE
						Intercept	CT	
pH = CT (g/kg DM)	<i>is + iv</i>	6.62	-0.01	0.144	7.26	< 0.001	0.218	0.22
	<i>is</i>	6.84	0.00	0.168	10.82	< 0.001	0.968	0.21
	<i>iv</i>	6.41	0.00	0.150	4.63	< 0.001	0.656	0.17
N-NH ₃ (mg/L)= CT (g/kg DM)	<i>is + iv</i>	13.10	-0.48	2.341	417.34	< 0.001	0.668	5.09
	<i>is</i>	11.05	-2.82	2.221	119.55	< 0.001	0.487	5.61
	<i>iv</i>	13.24	-0.72	0.775	135.42	< 0.001	0.105	5.32
VFA (mmol/L)= CT (g/kg DM)	<i>is + iv</i>	93.59	1.38	11.173	612.45	< 0.001	0.049	21.80
	<i>is</i>	86.76	2.30	13.151	198.08	< 0.001	0.557	22.20
	<i>iv</i>	84.13	0.66	12.504	259.45	< 0.001	0.649	21.63
C2 (mmol/L) = CT (g/kg DM)	<i>is + iv</i>	59.99	0.03	5.987	617.21	< 0.001	0.963	12.20
	<i>is</i>	64.07	0.55	5.301	219.95	< 0.001	0.702	11.69
	<i>iv</i>	50.53	-0.62	7.554	257.99	< 0.001	0.283	10.28
C3 (mmol/L) = CT (g/kg DM)	<i>is + iv</i>	19.71	0.35*	2.807	488.74	< 0.001	0.042	5.58
	<i>is</i>	16.84	0.88	1.984	163.35	< 0.001	0.113	4.48
	<i>iv</i>	20.32	0.36	3.654	216.39	< 0.001	0.208	6.43
C4 (mmol/L) = CT (g/kg DM)	<i>is + iv</i>	11.49	0.17*	1.361	384.10	< 0.001	0.047	3.80
	<i>is</i>	8.85	0.14	1.785	152.75	< 0.001	0.784	3.09
	<i>iv</i>	12.11	0.09	0.842	135.95	< 0.001	0.303	3.37
A/P = CT (g/kg DM)	<i>is + iv</i>	3.37	-0.04	0.408	165.93	< 0.001	0.360	0.75
	<i>is</i>	3.98	-0.16	0.263	44.74	< 0.001	0.209	0.43
	<i>iv</i>	2.86	-0.03	0.515	83.53	< 0.001	0.672	0.82

CT = condensed tannins; N-NH₃: ruminal ammonia nitrogen; VFA = volatile fatty acids; C2 = acetate;

C3 = propionate; C4 = butyrate; A/P = acetate:butyrate ratio; *is* = *in vivo*; *iv* = *in vitro*; SEM = standard

error of mean; AIC = Akaike information criterion; RMSE = root mean squared error.

Table 5. Regression equations of CH₄ emission and its relationship with ruminal parameters of cattle supplemented with condensed tannins.

Regression ¹	Source	Intercept	CT	pH	N-NH ₃	VFA	C2	C3	C4	A/P	SEM	AIC	P-value							RMSE	VIF ²		
													Intercept	CT	pH	N-NH ₃	VFA	C2	C3			C4	A/P
CH ₄ = pH + CT	<i>is + iv</i>	-5.17	-1.72	4.29							2.013	243.76	0.725	0.017	0.064							6.90	1.00
	<i>is</i>	1.00	-3.20	3.81							0.889	107.16	0.914	0.028	0.008							6.41	1.00
	<i>iv</i>	-4.10	-0.74	3.65							2.586	117.64	0.882	0.194	0.404							6.93	1.03
CH ₄ = N-NH ₃ + CT	<i>is + iv</i>	26.53	-1.18		-0.38						2.112	239.90	0.000	0.008	0.001							6.25	1.01
	<i>is</i>	25.42	-3.19		-0.02						1.022	106.28	0.000	0.094	0.944							4.52	1.52
	<i>iv</i>	9.47	-0.70		1.22						2.601	120.67	0.073	0.260	0.160							8.17	1.11
CH ₄ = VFA + CT	<i>is + iv</i>	25.14	-1.93			-0.03					1.995	255.91	0.000	0.018		0.524						6.51	1.00
	<i>is</i>	30.66	-3.86			-0.06					0.926	115.76	0.000	0.025		0.022						4.89	1.00
	<i>iv</i>	18.82	-0.76			0.02					2.363	125.68	0.058	0.154		0.821						7.41	1.04
CH ₄ =Acetate + CT	<i>is + iv</i>	22.83	-1.84				0.03				1.986	276.78	0.000	0.011			0.683					7.21	1.00
	<i>is</i>	34.29	-3.44				-0.11				1.065	139.93	0.000	0.017			0.027					5.87	1.00
	<i>iv</i>	14.35	-0.70				0.12				2.327	124.24	0.081	0.173			0.131					7.79	1.03
CH ₄ = Propionate+CT	<i>is + iv</i>	29.31	-1.90					-0.24			1.264	263.64	0.000	0.027				0.316				7.06	1.00
	<i>is</i>	33.51	-3.44					-0.37			0.910	134.60	0.000	0.029				0.003				6.00	1.00
	<i>iv</i>	27.69	-0.55					-0.30			1.270	112.38	0.008	0.071				0.524				7.69	1.00
CH ₄ = Butyrate + CT	<i>is + iv</i>	26.66	-2.00						-0.24		1.851	269.44	0.000	0.011					0.561			7.14	1.00
	<i>is</i>	26.47	-3.73						0.11		1.044	137.35	0.000	0.011					0.776			6.25	1.01
	<i>iv</i>	34.32	-0.86						-1.13		1.974	118.63	0.018	0.071					0.288			8.74	1.07
CH ₄ = A/P + CT	<i>is + iv</i>	8.73	-2.04							3.69	1.586	245.98	0.051	0.055						0.003		6.06	1.01
	<i>is</i>	14.14	-3.26							3.30	0.971	133.64	0.024	0.065						0.017		6.49	1.00
	<i>iv</i>	3.14	-1.27							3.50	2.111	93.28	0.375	0.030						0.015		6.65	1.00

¹ CH₄ = methane (L/kg DM); CT = condensed tannins (g/kg DM); N-NH₃: ruminal ammonia nitrogen (mg/L); VFA = volatile fatty acids (mmol/L); A/P = acetate:butyrate ratio; C2 = acetate (mmol/L); C3 = propionate (mmol/L); C4 = butyrate (mmol/L); *is* = *in vivo*; *iv* = *in vitro*; SEM = standard error of mean; AIC = Akaike information criterion; RMSE = root mean squared error. VIF = variance inflation factor.

² The largest value is listed. If VIF = 1, there is no multicollinearity among regressors; if 1 ≤ VIF ≤ 5, regressors are moderately correlated (Akinwande et al., 2015)

Table 6. Regression equations of CH₄ emissions and dry matter intake of cattle supplemented with condensed tannins.

Regression ¹	Source	Intercept	CT	DMI	SEM	AIC	P-value			RMSE	VIF ²
							Intercept	CT	DMI		
CH ₄ (L/kg DM) = DMI (kg DM/d)	<i>is</i> + <i>iv</i>	21.94		0.27	4.469	477.63	<0.001		0.632	8.55	
	<i>is</i>	25.38		0.21	5.060	351.06	<0.001		0.764	8.55	
	<i>iv</i>	40.82		-3.47	1.817	111.65	<0.001		0.024	7.13	
CH ₄ (L/kg DM) = DMI (kg DM/d) + CT (g/kg DM)	<i>is</i> + <i>iv</i>	27.14	-2.53	-2.53	3.173	456.81	<0.001	<0.001	0.812	8.57	1.00
	<i>is</i>	29.43	-3.61	0.01	3.414	331.27	<0.001	<0.001	0.991	8.10	1.00

¹ CH₄ = methane; CT = condensed tannins; DMI = dry matter intake; *is* = *in vivo*; *iv* = *in vitro*; SEM = standard error of mean; AIC = Akaike information criterion;

RMSE = root mean squared error. VIF = variance inflation factor.

² The largest value is listed. If VIF = 1, there is no multicollinearity among regressors; if 1 ≤ VIF ≤ 5, regressors are moderately correlated (Akinwande et al., 2015)

Table 7. Regression equations of CH₄ emissions and diet components provided to cattle supplemented with condensed tannins.

Regression ¹	Source	Intercept	OM	CP	CT*CP	EE	NDF	SEM	AIC	P-value					RMSE	VIF ²
										Intercept	OM	CP	EE	NDF		
CH ₄ = OM	<i>is + iv</i>	54.82	-0.30					3.842	339.62	0.105	0.403					
	<i>is</i>	23.20	0.08					4.025	233.65	0.557	0.851					
	<i>iv</i>	106.03	-0.93					2.399	95.91	0.019	0.043					
CH ₄ = OM + CP	<i>is + iv</i>	57.89	-0.28	-0.59				5.124	351.32	0.156	0.517	0.171				1.01
	<i>is</i>	36.05	-0.04	-0.41				6.026	246.43	0.455	0.943	0.368				1.03
	<i>iv</i>	88.53	-0.40	-2.58				1.979	93.38	0.018	0.346	0.084				1.29
CH ₄ = CP	<i>is + iv</i>	32.75		-0.63				4.361	476.94	<0.001		0.082				
	<i>is</i>	33.43		-0.50				4.955	350.95	<0.001		0.178				
	<i>iv</i>	59.98		-3.22				1.889	111.50	<0.001		0.010				
CH ₄ = CP + EE + NDF	<i>is + iv</i>	26.98		0.65		-3.94	-0.11	1.097	80.21	0.046	0.536	0.102	0.704			1.71
CH ₄ = CP + EE	<i>is + iv</i>	24.76		0.49		-3.66		1.083	75.54	0.038	0.575	0.083				1.27
CH ₄ = CP + NDF	<i>is + iv</i>	18.97		-0.21			0.18	4.135	478.64	0.050	0.652		0.135			1.39
	<i>is</i>	20.38		-0.10			0.18	4.734	354.15	0.071	0.850		0.215			1.59
	<i>iv</i>	48.68		-2.63			0.07	1.978	117.03	0.095	0.127		0.681			2.15
CH ₄ = NDF	<i>is + iv</i>	15.06					0.23	4.247	477.37	0.003				0.016		
	<i>is</i>	18.47					0.21	4.850	351.89	0.001				0.058		
	<i>iv</i>	4.17					0.31	2.243	118.90	0.633				0.022		
CH ₄ = EE + NDF	<i>is + iv</i>	31.39				-4.05	0.08	1.041	77.44	0.003			0.013	0.765		1.00
	<i>is</i>	29.58				-3.45	-0.03	0.292	31.89	0.002			0.004	0.858		1.00
CH ₄ = OM + NDF	<i>is + iv</i>	63.00	-0.50				0.19	4.965	352.71	0.090	0.225		0.105			1.03
	<i>is</i>	41.49	-0.18				0.08	5.979	248.86	0.338	0.709		0.572			1.11
	<i>iv</i>	79.63	-0.82				0.35	1.997	96.77	0.033	0.038		0.093			1.00
CH ₄ = EE	<i>is + iv</i>	27.192				-1.29		1.065	72.80	<0.001			0.599			
	<i>is</i>	28.38				-3.35		0.272	25.48	<0.001			0.001			
	<i>iv</i>	-22.58				20.82		1.560	27.37	0.095			NaN			
CH ₄ = OM + EE	<i>is + iv</i>	29.79	0.05			-0.80		0.742	24.66	0.650	0.964		0.961			1.41

¹CH₄ = methane (L/kg DM); CP = crude protein (g/kg DM); OM = organic matter (g/kg DM); EE = ether extract (g/kg DM); NDF = neutral detergent fiber (g/kg DM); CT = condensed tannins (g/kg DM); *is* = *in vivo*; *iv* = *in vitro*; SEM = standard error of mean; AIC = Akaike information criterion; RMSE = root mean squared error; VIF = variance inflation factor.

²The largest value is listed. If VIF = 1, there is no multicollinearity among regressors; if $1 \leq \text{VIF} \leq 5$, regressors are moderately correlated (Akinwande et al., 2015)

Table 8. Regression equations of CH₄ emissions and the relation of diet components and condensed tannins.

Regression ¹	Source	Intercept	CT	OM	CP	CT*CP	NDF	SEM	AIC	P-value					RMSE	VIF ²
										Intercept	CT	OM	CP	NDF		
CH ₄ = CT + CP + OM + NDF	<i>is + iv</i>	40.55	-4.10	-0.33	0.38		0.29	2.751	332.64	0.116	0.004	0.232	0.221	0.010	5.55	1.00
	<i>is</i>	28.72	-5.53	-0.05	0.13		0.13	3.344	229.76	0.386	<0.001	0.888	0.776	0.403	6.40	1.00
	<i>iv</i>	72.13	-0.86	-0.84	0.70		0.34	1.687	95.92	0.032	0.048	0.082	0.734	0.106	8.30	1.00
CH ₄ = CT + CP + OM	<i>is</i>	28.98	-5.27	0.06	-0.28			3.957	228.88	0.416	0.001	0.877	0.349		5.37	1.00
CH ₄ = CT + CP	<i>iv</i>	61.16	-0.81		-3.25			1.618	110.68	<0.001	0.030		0.006		10.55	1.02
CH ₄ = CT + CP + CT*CP	<i>is</i>	35.64	-6.87		-0.49	0.33		3.465	333.59	<0.001	<0.001		0.067		8.15	4.58
	<i>iv</i>	60.75	-3.31		-3.22	0.17		1.611	115.32	<0.001	0.156		0.007		10.23	4.35

¹ CH₄ = methane; CP = crude protein; OM = organic matter; NDF = neutral detergent fiber; CT = condensed tannins; *is* = *in vivo*; *iv* = *in vitro*; SEM = standard error of mean; AIC = Akaike information criterion; RMSE = root mean squared error. VIF = variance inflation factor.

² The largest value is listed. If VIF = 1, there is no multicollinearity among regressors; if 1 ≤ VIF ≤ 5, regressors are moderately correlated (Akinwande et al., 2015).