

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 31/10/2026.

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

**Efeito da combinação de aditivos em diferentes suplementos
sobre o metabolismo e desempenho de bovinos Nelore
recriados em pasto no período chuvoso**

Karine Dalla Vecchia Camargo

Mestra em Zootecnia

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

**Efeito da combinação de aditivos em diferentes suplementos
sobre o metabolismo e desempenho de bovinos Nelore
recriados em pasto no período chuvoso**

Karine Dalla Vecchia Camargo

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis

Coorientadoras: Dr^a. Yury Tatiana Granja-Salcedo

Dr^a. Márcia Helena Machado Da Rocha Fernandes

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

2024

C172e

Camargo, Karine Dalla Vecchia

Efeito da combinação de aditivos em diferentes suplementos sobre o metabolismo e desempenho de bovinos Nelore recriados em pasto no período chuvoso / Karine Dalla Vecchia Camargo. -- Jaboticabal, 2024

89 p.

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

Orientador: Ricardo Andrade Reis

Coorientadora: Yury Tatiana Granja-Salcedo

1. Nutrição animal. 2. Pastagens. 3. Suplementos dietéticos. 4. Aditivos. 5. Rúmen microbiologia. I. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: EFEITO DA COMBINAÇÃO DE ADITIVOS EM DIFERENTES SUPLEMENTOS SOBRE O METABOLISMO E DESEMPENHO DE BOVINOS NELORE RECRIADOS EM PASTO NO PERÍODO CHUVOSO

AUTORA: KARINE DALLA VECCHIA CAMARGO

ORIENTADOR: RICARDO ANDRADE REIS

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

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

Documento assinado digitalmente
RICARDO ANDRADE REIS
Data: 31/10/2024 13:11:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. HILÁRIO CUQUETTO MANTOVANI (Participação Virtual)
Departamento Animal Science / University of Wisconsin - Madison/Wisconsin/EUA

Documento assinado digitalmente
HILARIO CUQUETTO MANTOVANI
Data: 01/11/2024 09:42:13-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. RONDINELI PAVEZZI BARBERO (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / Universidade Federal Rural (UFRRJ) - Seropédica/RJ

Documento assinado digitalmente
RONDINELI PAVEZZI BARBERO
Data: 02/11/2024 21:50:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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

Documento assinado digitalmente
JULIANA DUARTE MESSANA
Data: 04/11/2024 14:19:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. EDUARDO FESTOZO VICENTE (Participação Virtual)
Departamento Engenharia de Biossistemas / FCE UNESP Tupã

Documento assinado digitalmente
EDUARDO FESTOZO VICENTE
Data: 04/11/2024 18:24:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 31 de outubro de 2024

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Karine Dalla Vecchia Camargo, nascida em 27 de setembro de 1994, na cidade de Nobres, Mato Grosso, é filha de Kátia Cilene Dalla Vecchia e Gilnei Camargo da Silva. Possui graduação em Zootecnia (2012-2017) pela Universidade Federal de Mato Grosso - Campus Cuiabá. Durante a graduação, foi bolsista de iniciação científica do CNPq sob a orientação do Dr. Luciano da Silva Cabral (2015-2017). Possui Mestrado em Zootecnia (2018-2020), na área de nutrição e produção de ruminantes, pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal, sob a orientação da Dra. Telma Teresinha Berchielli. Durante o mestrado, participou por quatro meses de um intercâmbio (BEPE), atuando como pesquisadora visitante na University of Queensland, campus Gatton – Austrália, sob a supervisão do Dr. Luis Felipe Prada e Silva. Em março de 2020, ingressou no curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal, sob a orientação do Dr. Ricardo Andrade Reis. Durante o doutorado, participou do Programa de Doutorado Sanduíche CAPES PRINT por 12 meses, atuando como pesquisadora visitante na University of Wisconsin, Madison – Estados Unidos, sob a supervisão do Dr. Hilário Mantovani.

AGRADECIMENTOS

A Deus e à minha família, por me apoiarem ao longo deste longo e difícil caminho. Em especial, ao Nonno Tarcísio Dalla Vecchia (*in memoriam*) e ao meu pai, Gilnei Camargo (*in memoriam*). Agradeço às minhas mães Kátia, Maria José e Iralda Dalla Vecchia por não medirem esforços e por me darem a melhor criação possível. À família Dalla Vecchia como um todo, por todo amor e suporte, sempre.

Ao meu orientador, professor Dr. Ricardo Andrade Reis, e às coorientadoras Yury Tatiana Granja-Salcedo e Márcia Helena Machado da Rocha Fernandes, pelos ensinamentos, companheirismo e paciência durante todo o doutorado. Sou profundamente grata a vocês pela oportunidade e por todo incentivo para concluir esta etapa.

Ao professor Hilário Mantovani, Fiorela Viquez-Umana, Ana Júlia Moreira, Alice Peres e toda a equipe do Mantovani o Garret Lab, que me acolheu durante o programa de doutorado sanduíche CAPES PRINT na University of Madison – Wisconsin, pela excelente recepção em Madison. Foram 12 meses de muitos desafios e aprendizado.

A todos os estagiários, pós-graduandos e à excelente equipe do Setor de Forragicultura e Pastagem – UnespFor, pelo esforço e dedicação na conclusão deste projeto. Agradeço às companheiras de experimento Natália e Débora pela amizade e parceria na condução do experimento e das análises laboratoriais. Aos meus coorientados de graduação Willian, Carlos Eduardo e Júlia, meu sincero agradecimento pela dedicação e ajuda que resultaram no sucesso da execução dos projetos.

Ao funcionário do Setor de Bovinocultura de Corte – Unesp FCAV, Ademir Servidone, pelo suporte durante os meses de experimento de campo.

Às minhas companheiras de república, Thayná, Tatiana e Dardânia, que prazer foi dividir a vida com vocês durante esses anos! Foram bons anos de amizade que perduram até hoje.

Aos meus amigos Débora, Rodrigo, Ari, Ana Verônica, Kenia, Paloma, Laís, Marina e Yuri, pela amizade, descontração e pelas boas histórias durante todos os anos que morei em Jaboticabal.

Aos amigos que tive o prazer de conhecer em Madison – Mariana, Fiorela, Leonardo e Vinicio –, guardo com carinho as memórias dos bons momentos vividos (mesmo a -25°C).

À Cargill, pelo apoio financeiro e pela idealização do experimento.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Sumário

Certificado da comissão de ética no uso dos animais	iv
Resumo.....	v
Abstract.....	vii
1. CAPÍTULO 1 - Considerações gerais	1
1.1. Introdução	1
2. Revisão de literatura	2
2.1.1. Intensificação sustentável e manejo de pasto.....	2
2.1.2. Suplementação de animais em pasto no período chuvoso.....	4
2.1.3. Aditivos alimentares.....	7
2.1.4. Monensina para bovinos de corte em pastejo.....	7
2.1.5. Compostos fitogênicos para bovinos de corte em pastejo	10
3. Hipótese.....	13
4. Referências.....	14
CAPÍTULO 2 - Effect of combining feed additives in different supplements on intake, digestibility, nitrogen metabolism, and performance of beef cattle rearing on tropical pasture	24
Abstract.....	24
1. Introduction	26
2. Materials and methods.....	27
2.1. Experimental procedures	27
2.2. Experiment 1 – Intake, digestibility, and N metabolism	31
2.2.1. Intake and digestibility.....	31
2.2.2. N metabolism, microbial nitrogen, and plasma urea	32
2.3. Experiment 2 – Animal performance	33

2.4. Statistical analysis.....	34
3. Results	34
3.1. Intake and digestibility	34
3.2. Nitrogen metabolism	36
3.3. Animal performance	37
4. Discussion.....	37
5. Conclusion	42
6. References.....	43

CAPÍTULO 3 - Combination of feed additives in different supplements can affect ruminal fermentation parameters and bacterial community composition in grazing beef cattle

Abstract.....	51
1. Introduction	53
2. Materials and methods.....	54
2.1. Experimental procedures	55
2.1.1. Feed intake and digestibility	57
2.1.2. Ruminal Fermentation Parameters	57
2.1.3. DNA extraction, sequencing, and bioinformatics.....	58
2.1.4. Statistical analysis.....	60
3. Results	61
3.1. Feed intake and digestibility	61
3.2. Ruminal fermentation parameters	62
3.3. Ruminal bacterial community	64
3.4. Spearman's correlation	71
3.5. PCA.....	73

4. Discussion.....	75
5. Conclusion	78
6. References.....	80

Certificado da comissão de ética no uso dos animais

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

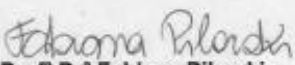


CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

A COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 12 de novembro de 2020, **referendou** o Protocolo nº 4208/2020, do projeto intitulado **"Impacto de tipos de suplementação ou fontes de fertilizantes nitrogenados na eficiência de utilização de nitrogênio e emissões de gases de efeito estufa na produção de bovinos de corte"**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis, manifestando-se favoravelmente, de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

Jaboticabal, 12 de novembro de 2020.


Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal - SP - Brasil
Tel. 16 3209-7100 - www.fca.unesp.br

EFEITO DA COMBINAÇÃO DE ADITIVOS EM DIFERENTES SUPLEMENTOS SOBRE O METABOLISMO E DESEMPENHO DE BOVINOS NELORE RECRIADOS EM PASTO NO PERÍODO CHUVOSO

Resumo

Aditivos alimentares, como monensina e compostos fitogênicos, modulam a fermentação ruminal e representam uma alternativa para a intensificação sustentável na produção de bovinos de corte em pasto, devido ao seu potencial de favorecer processos benéficos e reduzir o impacto ambiental gerado pela pecuária. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da adição de uma combinação de aditivos alimentares (monensina e blend de fitogênicos contendo óleos essenciais, saponinas e especiarias) em diferentes suplementos e níveis de suplementação sobre o consumo, digestibilidade, microbioma ruminal e síntese de proteína microbiana, além de eficiência de utilização de nitrogênio (N) e desempenho de bovinos na fase de recria, no período chuvoso. Dois experimentos (metabolismo e desempenho) foram realizados simultaneamente, avaliando três tipos de suplementações: suplementação mineral *ad libitum* (SM); suplementação mineral aditivada, 0,1% do peso corporal (PC), contendo aditivos alimentares (monensina e *blend* fitogênico) (SMA+A); e suplementação proteico-energética 0,3% do peso corporal (PC), contendo aditivos alimentares (monensina e *blend* fitogênico) (SPE+A). O *blend* de fitogênicos é um produto patenteado da marca Actifor® Boost (Delacon Biotechnik, Steyregg, Austria). Os animais foram mantidos em pastagem de *Urochloa brizantha* (A. Rich.) Stapf. cv. Marandu manejados em lotação contínua com taxa de lotação variável. Exp 1: No experimento de metabolismo, 9 novilhos Nelore canulados no rúmen foram mantidos em 9 piquetes e distribuídos em 3 delineamentos de quadrados latinos 3x3 simultâneos. Exp 2: No experimento de desempenho, 60 tourinhos Nelore foram distribuídos em 12 piquetes (unidades experimentais = 12, piquetes por tratamento = 4) e alocados em um delineamento em blocos casualizados. Não houve efeito das suplementações no consumo de matéria seca, consumo de forragem, ingestão de nutrientes ou na digestibilidade dos nutrientes avaliados ($P \geq 0,48$). As excreções de N na urina (g/dia) foram menores ($P = 0,036$) nos animais suplementados com SMA+A e

SPE+A. Consequentemente, SMA+A e SPE+A permitiram uma maior retenção de nitrogênio, % do N ingerido ($P = 0,006$). A concentração de ureia no plasma, o N microbiano (NMIC), a eficiência da síntese microbiana (ESM) no rúmen e o desempenho animal não foram afetados pelos tratamentos ($P \geq 0,31$). Os animais do grupo SMA+A apresentaram uma maior proporção molar de propionato ($P = 0,016$) e uma menor relação acetato:propionato ($P = 0,040$) em comparação à SM, embora não tenha sido observada diferença entre os animais suplementados com SPE+A e SMA+A. As abundâncias relativas do filo *Spirochaetes*, da família *Spirochaetaceae* e do gênero *Treponema* diminuíram no rúmen dos animais suplementados com SMA+A ($P \leq 0,037$) e foram semelhantes entre MS e SPE+A. SMA+A e SPE+A não afetaram as medidas de alfa diversidade, como os índices Shannon e Fisher ($P = 0,219$), nem o índice de riqueza medido pelos métodos Chao1 e ACE ($P \geq 0,363$). SMA+A e SPE+A resultaram em um aumento apenas na alfa diversidade representada pelo Índice de Diversidade Simpson ($P = 0,004$). A inclusão de uma combinação de aditivos alimentares em diferentes suplementos e níveis de suplementações contribuiu para um sistema de produção mais sustentável, reduzindo a excreção de N na urina e aumentando a retenção de N. No entanto, isso não resultou em ganho de peso adicional. Os diferentes tipos de suplementação promoveram alterações nos níveis de filo, família e gênero na comunidade bacteriana ruminal. Além disso, a suplementação com SMA+A aumentou a concentração de propionato no rúmen dos novilhos suplementados.

Palavras-chave: Consumo; digestibilidade, microbioma ruminal, utilização de nitrogênio, aditivos fitogênicos; monensina; intensificação sustentável

EFFECT OF A COMBINATION OF FEED ADDITIVES IN DIFFERENT SUPPLEMENTS ON METABOLISM AND PERFORMANCE OF GRAZING NELORE CATTLE DURING THE RAINY SEASON

Abstract

Feed additives, such as monensin and phytogenic compounds, modulate ruminal fermentation and represent an alternative for sustainable intensification in beef cattle production on pasture, due to their potential to promote beneficial processes and reduce the environmental impact generated by livestock farming. This study aimed to evaluate the effects of the addition of feed additives (monensin plus a blend of phytogenic additives) containing saponins, essential oils, and spices in different supplements and supplementation levels on intake, digestibility, ruminal microbiome, nitrogen (N) use efficiency, and performance of rearing beef cattle, during the rainy season. Two experiments (metabolism and performance) were conducted simultaneously, evaluating three types of supplementations: *ad libitum* mineral supplementation (MS); added mineral supplementation at 0.1% of BW, containing feed additives (monensin and phytogenic blend) (AMSP); and energetic-protein supplementation of 0.3% of BW, containing feed additives (monensin and phytogenic blend) (EPSP). The phytogenic blend is a patented proprietary branded product Actifor® Boost (Delacon Biotechnik, Steyregg, Austria). Animals were kept in paddocks grazing *Urochloa brizantha* (A. Rich.) Stapf. cv. Marandu pasture. In the metabolism study, 9 Nellore steers cannulated in the rumen were kept in 9 paddocks and assigned to 3 simultaneous 3 × 3 Latin square designs. In the performance study, 60 young Nellore bulls were kept in 12 paddocks (experimental units = 12, paddocks per treatment = 4) and assigned to a randomized complete block design. There were no differences in dry matter intake, forage intake, nutrient intake, or the nutrients digestibility ($P \geq 0.48$). Urine nitrogen (N) excretions (g/day) were lower ($P = 0.036$) in animals supplemented with AMSP and EPSP when compared to MS. Consequently, AMSP and EPSP allowed higher N retained as a percentage of N intake ($P = 0.006$). Plasma urea concentration, microbial nitrogen (NMIC), efficiency of microbial synthesis (EMS) in the rumen, and performance were not affected by treatments ($P \geq$

0.31). The AMS group showed a higher molar proportion of propionate ($P = 0.016$) and lower acetate:propionate ratio ($P = 0.040$) compared to MS, although no difference was observed between EPSP and AMSP-supplemented animals. The relative abundances of the *Spirochaetes* phylum, *Spirochaetaceae* family, and *Treponema* genus decreased in the rumen of AMSP supplemented animals ($P \leq 0.037$) and were similar between MS and EPSP. The AMSP and EPSP did not affect measures of alpha diversity, such as Shannon and Fisher indices ($P = 0.219$) as well as the richness index measured using Chao1 and ACE ($P \geq 0.363$). AMSP and EPSP resulted in an increase in alpha diversity only to the Simpson's Index of Diversity ($P = 0.004$). Including a combination of feed additives in different commercial supplements and different supplementation levels contributed to a sustainable production system by reducing N-urinary excretion and increasing N-retention. However, it did not lead to additional weight gain. The inclusion of combination of feed additives in different supplements promoted changes at the phylum, family, and genus levels in the ruminal bacterial community. In addition, the AMSP increased the ruminal propionate concentration in the rumen of supplemented animals.

Keywords: Intake; digestibility; rumen microbiome; nitrogen utilization; phytogenic compounds; monensin; sustainable intensification

1. CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

1.1. Introdução

O sistema de produção de bovinos enfrenta desafios relacionados à sustentabilidade ambiental e econômica, sendo necessário conciliar o aumento de produtividade animal com a redução do impacto ambiental gerado pela atividade. Embora desafiador, esse objetivo pode ser alcançado em sistemas intensivos sustentáveis por meio do manejo adequado de pastagem, fertilização nitrogenada e estratégias nutricionais (Cardoso et al., 2016; Cardoso et al., 2020). Nesse contexto, intervenções dietéticas podem ser usadas com o propósito de manipular a fermentação ruminal, reduzir a excreção de nitrogênio (N) no meio ambiente, diminuindo as emissões de gases de efeito estufa (GEE) como o óxido nitroso (N_2O), metano (CH_4), além de melhorar o desempenho animal (Beauchemin et al., 2007; Huws et al., 2018; Camargo et al., 2022).

O sistema de produção de bovinos de corte com intensivo manejo de pasto pode resultar no aumento do valor nutritivo da forragem, uma alta proporção de folhas e N solúvel, quando manejos baseados na altura do dossel e na fertilização com N são adotados (Delevatti, et al., 2019; Cardoso, et al., 2019; Leite et al., 2021), o que pode modular a utilização N pelos animais (Fonseca et al., 2022). O N solúvel disponível no pasto pode ser rapidamente utilizado pelos microrganismos ruminais (Huntington e Archibeque, 1999), resultando na produção excessiva de nitrogênio amoniacal ruminal (NAR), que pode ser excretada na urina. Nessa condição, estratégias nutricionais como a suplementação e utilização de aditivos se fazem necessárias.

Os efeitos das suplementações proteica, proteico-energética ou energética variam de acordo com sua composição e o nível de inclusão na dieta (0,1%, 0,3% ou 0,6% do peso corporal (PC), contudo, estudos demonstram seus efeitos benéficos na ingestão de nutrientes, fermentação ruminal e desempenho animal (Koscheck et al., 2020; Leite et al., 2022; Berça et al., 2023). Adicionalmente, aditivos alimentares como monensina e

compostos fitogênicos, como óleos essenciais e saponinas, vêm demonstrando efeitos positivos na modulação da fermentação ruminal (Russell e Strobel, 1989; Patra e Saxena, 2009a; Cobellis et al., 2016; Ahvanooei et al., 2024), além do potencial de melhorar a eficiência energética quando usados em combinação (Silva et al., 2021) .

Apesar do potencial dos aditivos alimentares na dieta de ruminantes, pouco se sabe sobre o efeito da combinação em diferentes suplementos comerciais para bovinos de corte recriados em pasto intensivamente manejados no período chuvoso. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da adição de aditivos alimentares (contendo óleos essenciais, saponinas e especiarias) em diferentes suplementos comerciais sobre o consumo, digestibilidade, microbioma ruminal e síntese de proteína microbiana, além de eficiência de utilização de N e desempenho de bovinos na fase de recria, no período chuvoso.

5. Conclusion

The inclusion of feed additives combination such as monensin and a phytogenic blend consisting of essential oils, saponins, and spices in different commercial supplements can induce changes at the phylum, family, and genus levels within the ruminal bacterial community of beef cattle steers raised on tropical pasture during the rainy season. These changes occur without significant alterations in nutrient intake and digestibility, or ammonia concentration. Specifically, the AMSP supplement led to an increase in the ruminal propionate concentration, while also resulting in a decrease in the relative abundance of bacteria involved in the fiber digestion in the rumen.

6. References

Albertsen, M., Hugenholtz, P., Skarszewski, A., Nielsen, K. L., Tyson, G. W., and Nielsen, P. H. (2013). Genome sequences of rare, uncultured bacteria obtained by differential coverage binning of multiple metagenomes. *Nature Biotechnology* 2013 31:6, 31(6), 533–538. <https://doi.org/10.1038/nbt.2579>

Amos, H. E., Little, C. O., and Mitchell, G. E. (1971). Proline Utilization during Cellulose Fermentation by Rumen Microorganisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 19(1), 112–115. <https://doi.org/10.1021/JF60173A051>

Araújo, T. L. D. R., da Silva, W. L., Berça, A. S., Cardoso, A. S., Barbero, R. P., Romanzini, E. P., and Reis, R. A. (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(10). <https://doi.org/10.3390/ani11102959>

Baile, C. A., Mclaughlin, C. L., Potter, E. L., and Chalupa, W. (1979). *FEEDING BEHAVIOR CHANGES OF CATTLE DURING INTRODUCTION OF MONENSIN I WITH ROUGHAGE OR CONCENTRATE DIETS*. <https://academic.oup.com/jas/article/48/6/1501/4699597>

Barbero, R. P., Malheiros, E. B., Araújo, T. L. R., Nave, R. L. G., Mulliniks, J. T., Berchielli, T. T., Ruggieri, A. C., and Reis, R. A. (2015). Combining Marandu grass grazing height and supplementation level to optimize growth and productivity of yearling bulls. *Animal Feed Science and Technology*, 209, 110–118. <https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2015.09.010>

Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., and Kamel, C. (2006). Plant Extracts Affect In Vitro Rumen Microbial Fermentation. *Journal of Dairy Science*, 89(2), 761–771. [https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302\(06\)72137-3](https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(06)72137-3)

Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P. W., Castillejos, L., and Ferret, A. (2007). Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90(6), 2580–2595. <https://doi.org/10.3168/JDS.2006-644>

Camargo, K. D. V., Messana, J. D., Silva, L. G., Granja-Salcedo, Y. T., Dias, A. V. L., Alves, K. L. G. C., Gonçalves, P. H., Souza, W. A., Reis, R. A., & Berchielli, T. T.

(2022). Intake, metabolism parameters, and performance of growing beef cattle on pasture supplemented with different rumen undegradable protein with different amino acid profile. *Animal Feed Science and Technology*, 286, 115258. <https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2022.115258>

Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C. A., Turnbaugh, P. J., Fierer, N., and Knight, R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(SUPPL. 1), 4516–4522. https://doi.org/10.1073/PNAS.1000080107/SUPPL_FILE/PNAS.201000080SI.PDF

Cardoso, A. S., Barbero, R. P., Romanzini, E. P., Teobaldo, R. W., Ongaratto, F., da Rocha Fernandes, M. H. M., Ruggieri, A. C., and Reis, R. A. (2020). Intensification: A key strategy to achieve great animal and environmental beef cattle production sustainability in *Brachiaria* grasslands. In *Sustainability (Switzerland)* (Vol. 12, Issue 16). MDPI. <https://doi.org/10.3390/su12166656>

Cardoso, A. S., Longhini, V. Z., Berça, A. S., Ongaratto, F., Siniscalchi, D., Reis, R. A., and Ruggieri, A. C. (2022). Pasture management and greenhouse gases emissions. *Biosci. j. (Online)*, 38, e38099–e38099. <https://doi.org/10.14393/BJ-V38N0A2022-60614>

Cardoso, A. S., Oliveira, S. C., Januszkiewicz, E. R., Brito, L. F., Morgado, E. da S., Reis, R. A., and Ruggieri, A. C. (2019). Seasonal effects on ammonia, nitrous oxide, and methane emissions for beef cattle excreta and urea fertilizer applied to a tropical pasture. *Soil and Tillage Research*, 194, 104341. <https://doi.org/10.1016/J.STILL.2019.104341>

Carpinelli, N. A., Halfen, J., Trevisi, E., Chapman, J. D., Sharman, E. D., Anderson, J. L., and Osorio, J. S. (2021). Effects of periparturient yeast culture supplementation on lactation performance, blood biomarkers, rumen fermentation, and rumen bacteria species in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 104(10), 10727–10743. <https://doi.org/10.3168/JDS.2020-20002>

Cobellis, G., Trabalza-Marinucci, M., Marcotullio, M. C., and Yu, Z. (2016). Evaluation of different essential oils in modulating methane and ammonia production, rumen fermentation, and rumen bacteria in vitro. *Animal Feed Science and Technology*, 215, 25–36. <https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2016.02.008>

Dallantonio, E. E., da Silva, L. G., Granja-Salcedo, Y. T., Messana, J. D., de Figueiredo Brito, L., Lima, A. R. C., Vito, E. S., de Souza Castagnino, P., da Silva Sobrinho, A. G., Reis, R. A., and Berchielli, T. T. (2023). Association of additives in supplemented grazing cattle during the finishing phase at the rainy season. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 52, e20210225. <https://doi.org/10.37496/RBZ5220210225>

Davis, J. P., Youssef, N. H., and Elshahed, M. S. (2009). Assessment of the diversity, abundance, and ecological distribution of members of candidate division SR1 reveals a high level of phylogenetic diversity but limited morphotypic diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(12), 4139–4148. https://doi.org/10.1128/AEM.00137-09/SUPPL_FILE/TABLES1.PDF

Delevatti, L. M., Romanzini, E. P., Koscheck, J. F. W., da Ross de Araujo, T. L., Renesto, D. M., Ferrari, A. C., Barbero, R. P., Mulliniks, J. T., and Reis, R. A. (2019). Forage management intensification and supplementation strategy: Intake and metabolic parameters on beef cattle production. *Animal Feed Science and Technology*, 247, 74–82. <https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2018.11.004>

Detmann, E., Souza, M. A., Valadares Filho, S. C., Queiroz, A. C., Berchielli, T. T., Saliba, E. O. S., Cabral, L. S., Pina, D. S., Ladeira, M. M., and Azevedo, J. A. G. (2012). *Métodos Para Análise De Alimentos. Suprema. Visconde do Rio Branco, Minas Gerais, Brazil.*

Dorea, J. R. R., Gouvea, V. N., Agostinho Neto, L. R. D., Da Silva, S. C., Brink, G. E., Pires, A. V., and Santos, F. A. P. (2020). Beef cattle responses to pre-grazing sward height and low level of energy supplementation on tropical pastures. *Journal of Animal Science*, 98(6), 1–11. <https://doi.org/10.1093/JAS/SKAA163>
Fenner, H. (1965). Method for Determining Total Volatile Bases in Rumen Fluid by Steam Distillation. *Journal of Dairy Science*, 48(2), 249–251. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(65\)88206-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(65)88206-6)

Ferrari, A. C., Leite, R. G., Fonseca, N. V. B., Romanzini, E. P., Cardoso, A. S., Barbero, R. P., Costa, D. F. A., Ruggieri, A. C., and Reis, R. A. (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. <https://doi.org/10.1016/J.LIVSCI.2021.104716>

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2021). *Livestock and Landscapes: Sustainability Pathways. Food and Agriculture Organizations of the United Nations.*

Golder, H. M., Denman, S. E., McSweeney, C., Celi, P., and Lean, I. J. (2014). Ruminant bacterial community shifts in grain-, sugar-, and histidine-challenged dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 97(8), 5131–5150. <https://doi.org/10.3168/JDS.2014-8003>

Gomes Carvalho Alves, K. L., Granja-Salcedo, Y. T., Messana, J. D., Carneiro de Souza, V., Generoso Ganga, M. J., Detogni Colovate, P. H., Kishi, L. T., and Berchielli, T. T. (2021). Rumen bacterial diversity in relation to nitrogen retention in beef cattle. *Anaerobe*, 67, 102316. <https://doi.org/10.1016/J.ANAEROBE.2020.102316>

Granja-Salcedo, Y. T., Duarte Messana, J., Carneiro De Souza, V., Lino Dias, A. V., Takeshi Kishi, L., Rocha Rebelo, L., and Teresinha Berchielli, T. (2017). Effects of partial replacement of maize in the diet with crude glycerin and/or soyabean oil on ruminal fermentation and microbial population in Nellore steers. *British Journal of Nutrition*, 118(9), 651–660. <https://doi.org/10.1017/S0007114517002689>

He, T., Wang, X., Long, S., Li, J., Wu, Z., Guo, Y., Sun, F., and Chen, Z. (2023). Calcium Propionate Supplementation Mitigated Adverse Effects of Incubation Temperature Shift on In Vitro Fermentation by Modulating Microbial Composition. *Fermentation* 2023, Vol. 9, Page 544, 9(6), 544. <https://doi.org/10.3390/FERMENTATION9060544>

Hungate, R. E. (1950). The anaerobic mesophilic cellulolytic bacteria. *Bacteriological Reviews*, 14(1), 1–49. <https://journals.asm.org/journal/br>
Huntington, G. B., & Archibeque, S. L. (1999). Practical aspects of urea and ammonia metabolism in ruminants. *Article in Journal of Animal Science*. <https://doi.org/10.2527/jas2000.77E-Suppl1y>

Huws, S. A., Creevey, C. J., Oyama, L. B., Mizrahi, I., Denman, S. E., Popova, M., Muñoz-Tamayo, R., Forano, E., Waters, S. M., Hess, M., Tapio, I., Smidt, H., Krizsan, S. J., Yáñez-Ruiz, D. R., Belanche, A., Guan, L., Gruninger, R. J., McAllister, T. A., Newbold, C. J., ... Morgavi, D. P. (2018a). Addressing global ruminant agricultural challenges through understanding the rumen microbiome: Past, present, and future. *Frontiers in Microbiology*, 9(SEP), 403486. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2018.02161/BIBTEX>

Huws, S. A., Creevey, C. J., Oyama, L. B., Mizrahi, I., Denman, S. E., Popova, M., Muñoz-Tamayo, R., Forano, E., Waters, S. M., Hess, M., Tapio, I., Smidt, H., Krizsan, S. J., Yáñez-Ruiz, D. R., Belanche, A., Guan, L., Gruninger, R. J., McAllister, T. A., Newbold, C. J., Morgavi, D. P. (2018). Addressing global ruminant agricultural challenges through understanding the rumen microbiome: Past, present, and future. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 9, Issue SEP). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02161>

Johnson, A. D. (1978). Sample preparation and chemical analysis of vegetation. In *In 'Measurement of grassland vegetation and animal production'. (Ed. L t' Manetje) pp. 96–102. (Commonwealth Agricultural Bureaux: Aberystwyth).*

Kholif, A. E. (2023). A Review of Effect of Saponins on Ruminant Fermentation, Health and Performance of Ruminants. *Veterinary Sciences*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/VETSCI10070450>

Kim, M., Eastridge, M. L., and Yu, Z. (2014). Investigation of ruminal bacterial diversity in dairy cattle fed supplementary monensin alone and in combination with fat, using pyrosequencing analysis. *Canadian Journal of Microbiology*, 60(2), 65–71. <https://doi.org/10.1139/CJM-2013-0746/ASSET/IMAGES/LARGE/CJM-2013-0746F2.JPEG>

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., and Reis, R. A. (2020). How do animal performance and methane emissions vary with forage management intensification and supplementation? *Animal Production Science*, 60(9), 1201–1209. <https://doi.org/10.1071/AN18712>

Leite, R. G., Hoffmann, A., Romanzini, E. P., Delevatti, L. M., Ferrari, A. C., Fonseca, N. V. B., Barbero, R. P., Cardoso, A. S., and Reis, R. A. (2022). Zebu cattle fed dry distiller's grain or cottonseed meal had greater nitrogen utilization efficiency than non-supplemented animals. *Tropical Animal Health and Production*, 54(2). <https://doi.org/10.1007/s11250-022-03126-6>

McCann, J. C., Wickersham, T. A., & Loo, J. J. . (2014). High-throughput methods redefine the rumen microbiome and its relationship with nutrition and metabolism. *Journals.Sagepub.Com*, 8, BBI.S15389. <https://doi.org/10.4137/BBi.s15389>

McMurdie, P. J., and Holmes, S. (2013). phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. *PLOS ONE*, 8(4), e61217. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0061217>

Mott, G. O., and Lucas, H. L. (1952). *The design conduct and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. International Grassland Congress, vol. 2, pp. 1380-1385.*

Nagaraja, T. G., Newbold, C. J., Van Soest, P. J., Genovese, S., and Demeyer, D. I. (1997). Manipulation of ruminal fermentation. *The Rumen Microbial Ecosystem*, 523–632. https://doi.org/10.1007/978-94-009-1453-7_13

Obara, Y., Dellow, D., and Nolan, J. (1991). The influence of energy-rich supplements on nitrogen In: Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants. kinetics in ruminants. *Elsevier*, 515–539. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780127022901500291>

Patra, A. K. (2011). Enteric methane mitigation technologies for ruminant livestock: a synthesis of current research and future directions. *Environmental Monitoring and Assessment* 2011 184:4, 184(4), 1929–1952. <https://doi.org/10.1007/S10661-011-2090-Y>

Patra, A. K., Park, T., Braun, H. S., Geiger, S., Pieper, R., Yu, Z., and Aschenbach, J. R. (2019). Dietary Bioactive Lipid Compounds Rich in Menthol Alter Interactions Among Members of Ruminal Microbiota in Sheep. *Frontiers in Microbiology*, 10, 470160. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2019.02038/BIBTEX>

Patra, A. K., and Saxena, J. (2009). Dietary phytochemicals as rumen modifiers: A review of the effects on microbial populations. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 96(4), 363–375. <https://doi.org/10.1007/S10482-009-9364-1/METRICS>

Petri, R. M., Neubauer, V., Humer, E., Kröger, I., Reisinger, N., and Zebeli, Q. (2020). Feed Additives Differentially Impact the Epimural Microbiota and Host Epithelial Gene Expression of the Bovine Rumen Fed Diets Rich in Concentrates. *Frontiers in Microbiology*, 11, 499242. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.00119/BIBTEX>

Poppi, D. P., Quigley, S. P., da Silva, T. A. C. C., and McLennan, S. R. (2018). Challenges of beef cattle production from tropical pastures. In *Revista Brasileira de Zootecnia* (Vol. 47). Sociedade Brasileira de Zootecnia. <https://doi.org/10.1590/rbz4720160419>

Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., and Glöckner, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D590–D596. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKS1219>

Ranilla, M. J., Andrés, S., Gini, C., Biscarini, F., Saro, C., Martín, A., Mateos, I., López, S., Giráldez, F. J., Abdennebi-Najar, L., Pereira, D., Falleh, H., Ksouri, R., Cremonesi, P., Castiglioni, B., and Ceciliani, F. (2023). Effects of *Thymbra capitata* essential oil on in vitro fermentation end-products and ruminal bacterial communities. *Scientific Reports* 2023 13:1, 13(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31370-9>

Reis, R. A., Claudia, A., Alves, A., Vieira, M., and Rume, D. (2012). Supplementation as a strategy for the production of the beef quality in tropical pastures. In *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.* <http://www.rbspa.ufba.br>

Russell, J. B. (2002). Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition. . In *Department of Microbiology, Cornell University*. https://scholar.google.com/scholar?hl=pt-BR&as_sdt=0%2C50&q=Russell%2C+J.B.%2C+2002.+Rumen+microbiology+and+its+role+in+ruminant+nutrition.+Ithaca%2C+James+B.+Russell.&btnG=

Russell, J. B., and Strobel, H. J. (1989). MINIREVIEW Effect of Ionophores on Ruminal Fermentation. In *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* (Vol. 55, Issue 1). <https://journals.asm.org/journal/aem>

Schären, M., Drong, C., Kiri, K., Riede, S., Gardener, M., Meyer, U., Hummel, J., Urich, T., Breves, G., and Dänicke, S. (2017). Differential effects of monensin and a blend of essential oils on rumen microbiota composition of transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(4), 2765–2783. <https://doi.org/10.3168/JDS.2016-11994>

Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., Lesniewski, R. A., Oakley, B. B., Parks, D. H., Robinson, C. J., Sahl, J. W., Stres, B.,

Thallinger, G. G., Van Horn, D. J., and Weber, C. F. (2009). Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), 7537–7541. <https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09>

Serafim, J. A., Silveira, R. F., & Vicente, E. F. (2021). Fast Determination of Short-Chain Fatty Acids and Glucose Simultaneously by Ultraviolet/Visible and Refraction Index Detectors via High-Performance Liquid Chromatography. *Food Analytical Methods*, 14(7), 1387–1393. <https://doi.org/10.1007/S12161-021-01990-W/TABLES/5>

Silva, C. S., de Souza, E. J. O., Pereira, G. F. C., Cavalcante, E. O., de Lima, E. I. M., Torres, T. R., da Silva, J. R. C., and da Silva, D. C. (2017). Plant extracts as phytogenic additives considering intake, digestibility, and feeding behavior of sheep. *Tropical Animal Health and Production*, 49(2), 353–359. <https://doi.org/10.1007/S11250-016-1199-Y/FIGURES/1>

Sousa, J. T. L., Vendramini, J. M. B., Moriel, P., Sanchez, J. M. D., da Silva, H. M., Alencar, N., de Sousa, L. F., de Oliveira, H. M. R., and Palmer, E. A. (2022). Monensin and concentrate supplementation level affect forage ruminal measurements and forage in situ disappearance of bermudagrass fed to beef cattle. *Applied Animal Science*, 38(2), 141–149. <https://doi.org/10.15232/aas.2021-02249>

Tedeschi, L. O., Fox, D. G., and Tylutki, T. P. (2003). Potential Environmental Benefits of Ionophores in Ruminant Diets. *Journal of Environmental Quality*, 32(5), 1591–1602. <https://doi.org/10.2134/JEQ2003.1591>

Teobaldo, R. W., Cardoso, A. S., Brito, T. R., Leite, R. G., Romanzini, E. P., Granja-Salcedo, Y. T., and Reis, R. A. (2022). Response of Phytogenic Additives on Enteric Methane Emissions and Animal Performance of Nellore Bulls Raised in Grassland. *Sustainability (Switzerland)*, 14(15). <https://doi.org/10.3390/su14159395>

Teobaldo, R. W., Granja-Salcedo, Y. T., Cardoso, A. S., Constancio, M. T. L., Brito, T. R., Romanzini, E. P., and Reis, R. A. (2023). The Impact of Mineral and Energy Supplementation and Phytogenic Compounds on Rumen Microbial Diversity and Nitrogen Utilization in Grazing Beef Cattle. *Microorganisms*, 11(3), 810. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS11030810/S1>

Teobaldo, R. W., Paula, N. F. De, Zervoudakis, J. T., Fonseca, M. A., Cabral, L. S., Martello, H. F., Rocha, J. K. L., Ribeiro, I. J., Mundim, A. T., Teobaldo, R. W., Paula, N. F. De, Zervoudakis, J. T., Fonseca, M. A., Cabral, L. S., Martello, H. F., Rocha, J. K. L., Ribeiro, I. J., and Mundim, A. T. (2020). Inclusion of a blend of copaiba, cashew nut shell and castor oil in the protein-energy supplement for grazing beef cattle improves rumen fermentation, nutrient intake and fibre digestibility. *Animal Production Science*, 60(8), 1039–1050. <https://doi.org/10.1071/AN18725>

Titgemeyer, E., Armendariz, C., Bindel, D., Greenwood, R., and Löest, C. (2001). Evaluation of titanium dioxide as a digestibility marker for cattle. *Journal of Animal Science*, 79, 1059–1063.

Tomkins, N. W., Denman, S. E., Pilajun, R., Wanapat, M., McSweeney, C. S., and Elliott, R. (2015). Manipulating rumen fermentation and methanogenesis using an essential oil and monensin in beef cattle fed a tropical grass hay. *Animal Feed Science and Technology*, 200(1), 25–34. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.11.013>

Trautmann, A., Schleicher, L., Koch, A., Günther, J., Steuber, J., and Seifert, J. (2022). A shift towards succinate-producing *Prevotella* in the ruminal microbiome challenged with monensin. *PROTEOMICS*, 2200121. <https://doi.org/10.1002/PMIC.202200121>

Varzaneh, M. B., Klevenhusen, F., Zebeli, Q., and Petri, R. (2018). *Scrophularia striata* extract supports rumen fermentation and improves microbial diversity in vitro compared to Monensin. *Frontiers in Microbiology*, 9(SEP), 386562. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2018.02164/BIBTEX>

Vendramini, J. M. B., Sanchez, J. M. D., Cooke, R. F., Aguiar, A. D., Moriel, P., da Silva, W. L., Cunha, O. F. R., Ferreira, P. D. S., and Pereira, A. C. (2015). Stocking rate and monensin supplemental level effects on growth performance of beef cattle consuming warm-season grasses. *Journal of Animal Science*, 93(7), 3682–3689. <https://doi.org/10.2527/JAS.2015-8913>

Wallace, R. J., Arthaud, L., and Newbold, C. J. (1994). Influence of *Yucca shidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(6), 1762–1767. <https://doi.org/10.1128/AEM.60.6.1762-1767.1994>

Weimer, P. J., Stevenson, D. M., Mertens, D. R., and Thomas, E. E. (2008). Effect of monensin feeding and withdrawal on populations of individual bacterial species in the rumen of lactating dairy cows fed high-starch rations. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80(1), 135–145. <https://doi.org/10.1007/S00253-008-1528-9/TABLES/4>

Yang, C., Chowdhury, M. A. K., Hou, Y., and Gong, J. (2015). Phytogenic Compounds as Alternatives to In-Feed Antibiotics: Potentials and Challenges in Application. *Pathogens* 2015, Vol. 4, Pages 137-156, 4(1), 137–156. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS4010137>

Zhang, Q., Koser, S. L., Bequette, B. J., and Donkin, S. S. (2015). Effect of propionate on mRNA expression of key genes for gluconeogenesis in liver of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 98(12), 8698–8709. <https://doi.org/10.3168/JDS.2015-9590>