

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

**Danielle Dias Brutti**

**TANINOS NA NUTRIÇÃO DE BOVINOS: REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

**Porto Alegre  
2021**

**Danielle Dias Brutti**

**TANINOS NA NUTRIÇÃO DE BOVINOS: REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

Tese apresentada como requisito para obtenção do Grau de Doutora em Zootecnia, na Faculdade de Agronomia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

**Orientador:** Júlio Otávio Jardim Barcellos

**Coorientador (a):** Maria Eugênia Andrighetto Canozzi

**Porto Alegre  
2021**

### CIP - Catalogação na Publicação

Dias Brutti, Danielle  
Taninos na nutrição de bovinos: revisão sistemática  
e meta-análise / Danielle Dias Brutti. -- 2021.  
146 f.  
Orientador: Júlio Otávio Jardim Barcellos.

Coorientadora: Maria Eugênia Andrighetto Canozzi.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia, Porto Alegre, BR-RS, 2021.

1. Nutrição de ruminantes. 2. Bovinos. 3. Aditivos  
naturais. 4. Extratos de plantas. 5. Taninos. I.  
Jardim Barcellos, Júlio Otávio, orient. II.  
Andrighetto Canozzi, Maria Eugênia, coorient. III.  
Título.

Danielle Dias Brutti  
Mestre em Ciência Animal

## **TESE**

Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de

### **DOCTORA EM ZOOTECNIA**

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

Aprovada em: 06.04.21  
Pela Banca Examinadora



JÚLIO OTÁVIO JARDIM BARCELLOS  
PPG Zootecnia/UFRGS  
Orientador



Dario Colomatto  
Universidad de Buenos Aires

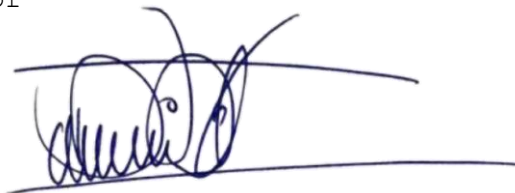


Gilberto Vilmar Kozloski  
Universidade Federal de Santa Maria



Joanis Tilemahos Zervoudakis  
Universidade Federal de Mato Grosso

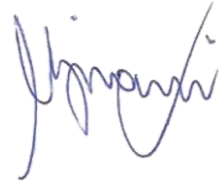
Homologado em: 19/05/2021  
Por



DANILO PEDRO STREIT JR.  
Coordenador do Programa de  
Pós-Graduação em Zootecnia



Pedro Veiga Rodrigues Paulino  
Cargill



CARLOS ALBERTO BISSANI  
Diretor da Faculdade de Agronomia

## EPÍGRAFE

*“Nunca deixe que o fracasso entre em seu coração nem que o sucesso suba à sua  
cabeça”*

*(Soichiro Honda)*

## **Agradecimentos**

Agradeço imensamente a minha família. Tudo o que sou devo a eles. Meus pais Ronaldo e Maira, que nunca mediram esforços para que eu pudesse me dedicar aos estudos, sendo combustíveis incansáveis para os momentos difíceis. Minha irmã Francielle, exemplo de dedicação e inspiração. Família, amo vocês. Vocês são a minha base, modelos de força e coragem, por vocês sempre sigo firme e forte. A minha companheira Aline, fonte incentivadora do dia a dia, que sempre acreditou em mim, mesmo quando eu já não acreditava. Agradeço por ter uma pessoa tão especial ao meu lado. A todos vocês, o meu mais sincero e caloroso, obrigada.

Ao professor Júlio Barcellos pela oportunidade de ingressar em um programa de pós-graduação altamente qualificado, pelo aprendizado ao longo destes quatro anos, pelas conversas, pela dedicação, por ter me incentivado sempre e lealdade que compartilhamos.

A minha coorientadora Maria Eugênia, pela análise estatística dos dados deste trabalho e suporte no desenvolvimento da metodologia.

Em especial, agradeço ao Amir, Everton, Jusecléia e Tamara, mais que colegas de NESPro, amigos para a vida toda, vocês têm um lugar cativo no meu coração. A Daniele, Marcela e Vanessa, além da amizade e bons momentos, também por aceitar o convite e ajudar na revisão sistemática. Aos demais colegas do NESPro, que estiveram presentes durante a minha passagem, mesmo que não diretamente, contribuíram para gerar um ambiente de amizade, companheirismo, troca de conhecimentos e momentos de descontração. Meus sinceros agradecimentos a esta equipe.

Agradeço a UFRGS, aos professores e funcionários e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia que oportunizou a realização do curso,

bem como ofereceu suporte e infraestrutura para o desenvolvimento das atividades. A CAPES, que através do apoio financeiro, permitiu a minha dedicação exclusiva a este trabalho.

Por fim, entre bons momentos e outros tantos turbulentos, durante esses quatro anos, encerro este ciclo com uma palavra que pode definir o meu sentimento neste momento: GRATIDÃO!

A todos vocês, meu muito obrigada!



## Taninos na nutrição de bovinos: revisão sistemática e meta-análise<sup>1</sup>

### Resumo

A presente revisão sistemática e metanálise sumarizou os efeitos do uso de taninos no desempenho e fermentação ruminal de bovinos de corte, conforme a fonte, tipo, concentração total e dose de tanino. Após as etapas de busca e seleção, 38 estudos foram incluídos na revisão, dos quais 29 avaliaram o consumo de matéria seca, oito de ganho médio diário, 13 de produção de leite, 20 de produção total de ácidos graxos de cadeia curta, 17 de concentração de nitrogênio amoniacal, 14 da digestibilidade da matéria seca e 10 a produção de metano. A medida de cada efeito foi gerada pela comparação de cada indicador entre a média do grupo controle (sem taninos) e do tratamento (com taninos) pelo método de DerSimonian e Laird para efeitos aleatórios. O consumo de matéria seca e o ganho médio diário apresentaram heterogeneidade moderada e nula, respectivamente em bovinos de corte, logo, não foram alterados em nenhuma condição de uso de taninos, mesmo considerando as variações de fonte, tipo, concentração total e dose utilizadas no tratamento. O consumo de matéria seca para bovinos de leite também não foi influenciada pelos taninos, com heterogeneidade moderada. Porém, a presença de tanino pode reduzir o consumo de dietas com alto teor de fibra em detergente neutro em até 1,22 kg/d em bovinos de corte e em 0,150 kg/d em bovinos de leite. Apesar de a produção de leite ter aumentado 1,458 kg/d com um extrato-blend de taninos, a produção total de ácidos graxos de cadeia curta não foi significativa na análise geral, com heterogeneidade moderada. Os efeitos de fonte, tipos, concentração total e dose reduziram a produção total de ácidos graxos de cadeia curta para bovinos de corte e leite. A presença de taninos diminuiu a concentração de nitrogênio amoniacal com elevada heterogeneidade. Os extratos de taninos condensado, hidrolisados e blend reduziram em até 3 Mm/L de líquido ruminal. Na meta-regressão, a proteína bruta acima de 200 g/kg de matéria seca da dieta em dose de tanino abaixo de 200 g/kg de matéria seca afeta a concentração de nitrogênio amoniacal. A digestibilidade da matéria seca não foi alterada na presença de taninos, contudo esse resultado também apresentou alta heterogeneidade. A produção de metano aumentou com taninos em dietas que contêm maiores teores de fibra em detergente neutro. Assim, o fornecimento de taninos unicamente para alterar o desempenho de bovinos não é viável, pois apresenta resultados muito variáveis, contudo, foram verificados benefícios indiretos como o maior aproveitamento da proteína, devido a menores concentrações de nitrogênio amoniacal.

**Palavras-chave:** aditivos alimentares naturais; desempenho; fermentação ruminal; taninos condensados; taninos hidrolisados.

<sup>1</sup>Tese de Doutorado em Zootecnia - Produção Animal, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (146 p.) março, 2021.

## Tannins in cattle nutrition: systematic review and meta-analysis<sup>1</sup>

### Abstract

This systematic review and meta-analysis summarized the effects of the use of tannins on the performance and ruminal fermentation of beef cattle, according to the tannin source, type, total concentration, and dose. After completing the search and selection steps, 38 studies were included in the review, of which 29 evaluated the results of interest for dry matter consumption, eight for the average daily gain, 13 for milk yield, 20 the total production of chain fatty acids short, 17 ammonia nitrogen concentration, 14 dry matter digestibility and 10 methane production. The effect measure was generated by comparing each indicator separately with the average of the control and treated group (with and without tannins) using the DerSimonian and Laird method for random effects. The dry matter intake and daily weight gain in beef cattle had no effect depending on the source, type, concentration, and the total dose with mild heterogeneity and null, respectively. However, studies that contain a diet with high fiber content in neutral detergent can reduce consumption by 1.22 kg / d in the presence of tannins. The consumption of dry matter for dairy cattle did not show any effect in the presence of tannins, with moderate heterogeneity. In the same way as for beef cattle, with the increase in neutral detergent fiber in the diet, there was a reduction in consumption by 0.150 kg/d. Milk production increased by 1.458 kg / d with a tannin extract-blend. The total production of short-chain fatty acids was not significant in the general analysis, with moderate heterogeneity. In the analysis of subgroups, the effects of source, types, total concentration, and dose reduced the total production of short-chain fatty acids for beef and dairy cattle. The concentration of ammoniacal nitrogen decreased in the presence of tannins, with high heterogeneity. In the analysis of subgroups, condensed, hydrolyzed and blend tannin extracts reduced by up to 3 Mm/L of ruminal liquid. Crude protein above 200 g / kg of dry matter in the diet at a dose above 200 g / kg of dry matter affects the concentration of ammoniacal nitrogen. The dry matter digestibility did not change in the presence of tannins; however, this result presents high heterogeneity. The increased production of methane when diets contain higher fiber contents neutral detergent in the presence of tannins. Thus, we conclude that the supply of tannins solely to alter the performance of cattle is not viable, however indirect benefits such as greater use of protein, due to lower concentrations of ammoniacal nitrogen, have been verified.

**Keywords:** condensed tannins; hydrolyzed tannins; natural feed additives; performance; ruminal fermentation.

## Lista de Ilustrações

<b>CAPÍTULO I</b> .....	12
<b>Figura 1:</b> Componentes estruturais dos taninos. A (hidrolisados) e B (condensados) (Adaptado de McMahon <i>et al.</i> 1999) .....	24
<b>CAPÍTULO II</b> .....	32
<b>Figure 1.</b> Sequence of variables analyzed in the meta-analysis with source, type, total concentration and dose of tannin in the diet of beef and dairy cattle, following: 1) treated versus control analysis; 2) analysis of subgroups and; 3) interactions between subgroups.....	38
<b>Figure 2.</b> Flow diagram indicating the number of abstracts and publications included and excluded in each level of the systematic review on the tannin on nutrition of beef and dairy cattle and effects on performance, adapted from Moher <i>et al.</i> (2009). .....	42
<b>CAPÍTULO III</b> .....	80
<b>Figura 1.</b> Meta-análise com e sem a inclusão de taninos dos 27 estudos; 2. Análise de subgrupos conforme a fonte, tipo, concentração total e dose de tanino em dietas de bovinos de corte e leite; 3. Interações entre subgrupos, fontes e tipos, fontes, tipos e CTT; fontes, tipos e doses; fontes, tipos, CTT e doses.....	94
<b>Figura 2.</b> Diagrama de fluxo indicando o número de resumos e publicações incluídos e excluídos em cada nível da revisão sistemática sobre o tanino na nutrição de bovinos de corte e leite e os efeitos na fermentação ruminal, adaptado de Moher <i>et al.</i> (2009) .....	97

## Lista de Tabelas

<b>CAPÍTULO II</b> .....	31
<b>Tabela 1.</b> Dry matter intake and average daily gain in beef cattle according to source tannin, type tannin, total concentration tannin and dose tannin.....	43
<b>Tabela 2.</b> Dry matter intake and milk yield in dairy cattle according to source tannin, type tannin, total concentration tannin and dose tannin .....	46
<b>CAPÍTULO III</b> .....	80
<b>Tabela 1.</b> Produção total de ácidos graxos de cadeia curta (SCFA; Mm/L) e concentração de N-amoniaco (N-NH <sub>3</sub> ; Mm/L) em bovinos, conforme a fonte de taninos, tipos de taninos, concentração total de taninos na fonte e doses.....	94
<b>Tabela 2.</b> Efeitos das interações entre fontes x tipos x concentrações totais x doses de taninos sobre a concentração de N-NH <sub>3</sub> .....	96
<b>Tabela 3.</b> Digestibilidade da MS (%) e produção de metano (g/d) de bovinos e corte e leite, conforme a fonte de taninos, tipos de taninos, concentração total de taninos na fonte e doses.....	98
<b>Tabela 4.</b> Resultados para meta-regressão univariável, mostrando significância ( $P < 0.05$ ) e tendências ( $0.05 \leq P < 0.1$ ) para a covariável investigada, como fontes potenciais de heterogeneidade do estudo. Os resultados explicados para cada uma das covariáveis incluídas na meta-análise são apresentados para SCFA (Mm/L), N-Amoniaco (Mm/L), DMD (%) e CH <sub>4</sub> (g/d) como um resultado. ....	101
<b>Tabela 5.</b> Mudanças na diferença média (MD) das variáveis SCFA, N-NH <sub>3</sub> , DMD e CH <sub>4</sub> com a remoção de estudos.....	104

## Lista de Abreviaturas

*ADG - average daily gain*

AGV – ácidos graxos voláteis

*CT – condensed tannin/ tanino condensado*

CTP – complexo tanino-proteína

CH<sub>4</sub> – metano

*DMD – dry matter digestibility/ digestibilidade da matéria seca*

*DM – dry matter*

*DMI – dry matter intake/ consumo de matéria seca*

*MY – milk yield/ produção de leite*

MS – matéria seca

N - Nitrogênio

*N-NH<sub>3</sub> – ammoniacal nitrogen/ nitrogênio amoniacal*

*SCFA – short chain fatty acids/ ácidos graxos de cadeia curta*

PEG - polietilenoglicol

## Sumário

CAPÍTULO I .....	152
1. Introdução .....	13
2. Revisão bibliográfica .....	15
2.1 Ambiente ruminal e fermentação .....	15
2.2 Intensificação da produção bovina e o uso de aditivos alimentares .....	17
2.3 Composto secundários de plantas na nutrição animal.....	22
2.4 Taninos .....	23
2.4.1. Efeitos dos taninos na produção animal .....	25
2.4.2. Efeitos dos taninos na fermentação ruminal .....	27
3. Hipóteses .....	30
4. Objetivo geral .....	30
4.1 Objetivos específicos .....	30
CAPÍTULO II .....	31
CAPÍTULO III .....	80
CAPÍTULO IV .....	132
Considerações finais .....	133
Referências .....	134
Apêndice .....	142
Vita .....	143

## **CAPÍTULO I**

## 1. Introdução

A produção de alimentos de origem animal, nas últimas décadas tornou-se foco de debates mundiais, principalmente por questões ambientais e econômicas. A busca por maior produtividade e eficiência, em menores espaços e prazos, alavancou pesquisas para melhorar a capacidade de produção animal. Nesse sentido, para intensificar os sistemas de produção pecuários, têm sido frequente o emprego de dietas e condições mais desafiadoras para os animais.

Para enfrentar esses desafios, têm sido utilizados diversos aditivos alimentares como estratégias para minimizar impactos nutricionais e ambientais indesejáveis da atividade, bem como, impulsionar efeitos benéficos para o animal. Estudos evidenciam que inúmeros aditivos alimentares têm potencial para alterar o ambiente ruminal, melhorando a eficiência nutricional e reduzindo as perdas produtivas (Tedeschi et al. 2003; McGinn et al. 2004; Guan et al. 2006; Van Nevel e Demeyer 2008; Patra 2012), e conseqüentemente melhorando o ganho de peso e a produção de leite.

Entre os aditivos disponíveis na nutrição animal, boa parte são antimicrobianos, que têm levado a discussões, pela comunidade científica e consumidora, em função de resíduos nos produtos de origem animal, além da possibilidade de surgimento de cepas resistentes ao seu efeito (Mendel et al. 2017). Por isso, diversas alternativas de aditivos naturais se tornaram tendência em pesquisas na produção de bovinos. Dentre os aditivos naturais, os óleos essenciais, saponinas e taninos têm sido os mais analisados em pesquisas na alimentação de ruminantes. Nesse contexto, os taninos se destacam devido ao seu alto potencial antimicrobiano em bovinos (Makkar 1995; Makkar 2003; Mueller-Harvey 2019).

Os taninos são descritos como polifenóis de elevado peso molecular, nas formas hidrolisadas ou condensadas. Conforme os principais achados, seus principais efeitos são as reduções na palatabilidade da dieta, no consumo de matéria seca (DMI) e na digestibilidade de proteínas e carboidratos (Makkar 2003; Mueller-Harvey 2006; Naumman et al. 2017). Em contrapartida, há possibilidade de precipitação de proteínas e outros nutrientes quando a correta fonte, tipo e dose estão ajustadas, atuando como ótimos antioxidantes (Scalbert 1991; Santos Buelga e Scalbert 2000). Em relação a doses, não são relatados efeitos adversos em concentrações de 2 a 4% da MS, especialmente com taninos condensados, pois podem elevar a absorção de



aminoácidos (Barry e McNabb 1999), mitigar metano (Bueno et al. 2015, Norris et al. 2020), reduzir a concentração da amônia ruminal e a excreção de N urinário (Carulla et al. 2005, Herremans et al. 2020).

Apesar de várias pesquisas descreverem os efeitos da adição de taninos em dietas para bovinos, os resultados do uso de taninos condensados e hidrolisados apresentam resultados divergentes e inconsistentes, tornando difícil a extrapolação dos seus efeitos para o desempenho e fermentação ruminal. Além disso, estes estudos abrangem uma grande diversidade de fontes, concentrações na planta, peso molecular, dose e tempo de exposição ao tanino; somado a isso, há a combinação de diferentes tipos de dietas com a inclusão de taninos, o que torna ainda mais complexa a conclusão quanto ao real efeito dos taninos para bovinos de corte e leite. Deste modo, essa tese integra todos os componentes relacionados aos taninos disponíveis em pesquisas científicas publicadas (fonte, concentração na planta, tipo e dose) e condensa os efeitos no desempenho e fermentação ruminal de bovinos para disponibilizar orientações claras e aplicáveis para o uso de taninos em bovinos.

## 2. Revisão bibliográfica

A presente revisão bibliográfica descreve os principais elementos que envolvem a utilização de aditivos para ruminantes, sobretudo, o uso de taninos (condensados e hidrolisados) em dietas para bovinos de corte e leite.

### 2.1 Ambiente ruminal e fermentação

Os ruminantes são singularizados pela retenção pré-gástrica dos alimentos em seu sistema digestório, onde o rúmen, seu maior compartimento, é habitado por uma vasta população de microrganismos, sendo eles bactérias, fungos e protozoários. Estes microrganismos mantêm uma relação simbiótica com o animal hospedeiro, que por sua vez usufrui os nutrientes digeridos, especialmente pela população bacteriana. Tais singularidades promovem ao ruminante uma vantagem frente a outras classes animais, porque ele aproveita mais eficientemente alimentos fibrosos através do processo de fermentação microbiana (Hungate 1966; Van Soest 1994).

O processo de fermentação e digestão dos alimentos nos ruminantes necessitam primariamente do que chamamos de aderência, após a qual se estabelece a colonização de micro-organismos e então se desencadeiam processos de degradação para que as fibras e demais compostos sejam aproveitados. A colonização do conjunto retículo-rúmen ocorre logo após o nascimento dos ruminantes, com aumento da população microbiana gradativamente ao decorrer das primeiras semanas de vida, ao passo que se estabeleça um ambiente já composto majoritariamente por microrganismos anaeróbios.

A população gastrointestinal dos ruminantes é composta por uma diversidade de microrganismos, sendo apenas uma pequena parte dela reconhecida mundialmente (Czerkawski 1986; Van Soest 1994). Em função da elevada complexidade, relações e interações microbianas desse ambiente com o hospedeiro e com diferentes tipos de substratos, apenas 10% desta população foi identificada e descrita (Pers-Kamczyc et al. 2011). Esse baixo percentual é razão da dificuldade em manter condições ideais para o rúmen (temperatura e anaerobiose) em ambientes controlados. Além das bactérias, protozoários e fungos, os metanógenos são considerados os primeiros colonizadores do rúmen, representando de 3 a 5% da biomassa ruminal. Os metanógenos que apareceram inicialmente no rúmen são do gênero *Methanobrevibacter* (Skillman et al. 2004).

A grande variabilidade em quantidade e qualidade de microrganismos no rúmen depende de muitos fatores: espécie animal, localização geográfica, alimentação e o uso de aditivos alimentares que afetam a fermentação ruminal (Szumacher-Strabel et al. 2009; Hook et al. 2010; Huang et al. 2012; Popova et al. 2012; Kumar et al. 2013). Além destes fatores, a concentração de hidrogênio afeta a efetividade da metanogênese (Cieslak et al. 2013), proporcionando um aumento na produção de metano em 94%, com pouca alteração na produção de ácidos graxos voláteis (AGVs) (Demeyer e De Graeve 1991).

A população do ecossistema do rúmen tem um efeito significativo na população de metanógenos e no nível de produção de metano (Cieslak et al. 2009, Morgavi et al. 2012). No entanto, a maioria dos dados da literatura no que diz respeito a metanógenos é ambígua, devido a dificuldade em cultivar esta população microbiana *in vitro* (Cieslak et al. 2013). Nesse sentido, desde os anos 80, o uso de aditivos alimentares, especialmente a monensina, alavancou os estudos na área, pois possibilitou o aumento da eficiência alimentar, com supressão na produção de metano (Tedeschi et al. 2011) e mudanças nos padrões de fermentação ruminal (Russel e Strobel 1989).

No rúmen, o hidrogênio é proveniente da fermentação anaeróbia das hexoses, sendo usado na síntese de ácidos graxos de cadeia curta e constituintes da massa microbiana. Quando há um excesso de hidrogênio no meio ruminal ele é eliminado principalmente via metano (Baker 1999). Dessa forma, devido ao balanço estequiométrico indicativo da produção destes ácidos graxos de cadeia curta, quando há alimentos que favorecem a maior formação de propionato, o hidrogênio é retirado mais rapidamente do meio, logo, a formação de metano é inibida (Wolin 1960). A magnitude de produção de metano é variável, por características que dizem respeito ao tipo de animal, hábito de consumo e digestibilidade dos alimentos fornecidos na dieta. Além disso, fatores como quantidade de carboidratos, processamento da forragem, adição de gorduras e manipulação da bioflora ruminal (Johnson e Johnson 1995), podem influenciar na produção de metano.

Os nutrientes oriundos da dieta, como os carboidratos poliméricos, no processo de fermentação são hidrolisados, sendo seus manômeros fermentados pelos microrganismos ruminais, produzindo energia para seu próprio crescimento e para o animal, na forma de AGV's, acético, propiônico e butírico, que são principal fonte de energia para os ruminantes. A proteína, por sua vez, é hidrolisada a peptídeos e

aminoácidos, que podem ser utilizados para síntese de proteína microbiana (principal constituinte da proteína metabolizável), ou podem ser fermentados a ácidos graxos de cadeia ramificada e amônia, que são de importância basal para o crescimento das bactérias fibrolíticas. Entretanto, sabe-se que a fermentação ruminal de carboidratos e proteínas não é um processo eficiente, porque mais de 12% da energia dos alimentos pode ser perdida na forma de metano e calor e mais de 50% da proteína pode ser convertida a amônia no rúmen e ser excretada via urina (Callaway et al. 2003).

O metano, além de ser um indicativo de ineficiência dos sistemas de produção, contribuindo cerca de 15 a 18% da formação global de gases do efeito estufa (Cotton e Pielke 1995; Callaway et al. 2003; Suppamong et al. 2017). Os compostos nitrogenados são extensamente degradados no rúmen, e em bovinos de leite de 20 a 30% do N consumido se encontra na proteína do leite e na carne produzida, sendo o restante todo perdido via urina e fezes (Dou et al. 1996; Kohn et al. 1997; Oenema et al. 2001). Considera-se que essa eficiência para bovinos de corte seja ainda pior, próximo de 10% (Hutchings et al. 1996). A baixa eficiência de conversão de N em produtos como carne e leite pode ser resultado da excessiva degradação proteica no rúmen, com elevadas taxas de produção e absorção de amônia e das interações do N com fontes de polissacarídeos para um crescimento pós absorção dos microrganismos (Van Soest 1994; Berchielli et al. 2011).

A extinção ou redução destes processos ineficientes é constantemente buscada, através da manipulação das dietas e da microflora ruminal. Por este motivo, os esforços de pesquisadores voltam-se para aumentar a eficiência de conversão dos alimentos em carne e leite, ao mesmo tempo em que se diminui impactos ambientais devido a produção de gases danosos. Principalmente no tocante à redução da produção de metano, redução da degradação do N, conversão de compostos nitrogenados não-proteicos em proteína microbiana, aumento da retenção de energia e aumento da produtividade em um menor espaço de tempo devido ao aumento na eficiência dos processos fermentativos (Nagaraja et al. 1997).

## 2.2 Intensificação da produção bovina e o uso de aditivos alimentares

A produção de alimentos para a alimentação animal é desafio em diversos países do mundo. Em países de clima temperado, há dificuldades em manter os

bovinos em sistemas abertos, devido ao longo período de nevascas e frio intenso. Por outro lado, em países de clima tropical, as características climáticas favorecem sistemas pecuários a pasto, sendo que, boa parte do tempo, os bovinos são mantidos neste tipo de sistema. Entretanto, nestes sistemas ocorre oscilação na qualidade e quantidade de forragem ao longo do ano, em decorrência do déficit forrageiro e descontínuo fornecimento de nutrientes entre as diferentes estações do ano. Por isso, o desenvolvimento contínuo dos bovinos é prejudicado, o que pode afetar o desempenho de bovinos de corte e leite.

Diante desses cenários, a intensificação dos sistemas produtivos é uma realidade que determina a sobrevivência dos produtores de carne e de leite. Dessa forma, o manejo adequado do pasto, associado à adubação, suplementação estratégica e potencial genético animal representam as práticas primordiais para melhorar a produtividade (Reis et al. 2011). Adicionalmente à intensificação do sistema, quando planejada e ajustada de forma sustentável, fornece suporte para benefícios ambientais, sociais e econômicos (Pessarakli et al. 2014). Tais benefícios advêm do aumento na retenção de carbono no solo, o que é alcançado por pastagens bem manejadas e fertilizadas (Peters et al. 2013).

Produzir de forma eficiente e sustentável, tanto para bovinos de corte como de leite, é essencial para os agentes envolvidos na atividade se manterem competitivos. A necessidade de intensificação do sistema pecuário impulsionou os nutricionistas a buscar estratégias alimentares cada vez mais tecnológicas, além das já utilizadas. Certamente, essas alternativas só são sustentadas em sistemas pecuários com taxas de produtividade iguais ou superiores aos tradicionais, ou seja, quando há um planejamento nutricional extremamente alinhado e ajustado. Nesse sentido, práticas como manejo adequado do pasto, suplementação mineral, proteica e/ou energética, inclusão de aditivos alimentares já são adotadas em muitas fases dos sistemas de produção (Crossland et al. 2017) como ferramentas nutricionais importantes na produção animal.

Dentre essas ferramentas, diversos aditivos alimentares são utilizados na alimentação de bovinos, sejam como promotores de crescimento via manipulação da fermentação ruminal, e/ou como medidas profiláticas. Dentre as categorias de aditivos existentes, há destaque aos de origem dietética, antibióticos ionóforos, antibióticos não ionóforos, vacinas, probióticos, ácido dicarboxílico, enzimas exógenas, plantas e extrato de plantas (Tedeschi et al. 2011).

Os aditivos alimentares mais estudados e largamente utilizados mundialmente são da categoria ionóforos. Segundo Mollenhauer et al. (1990), dos mais de 100 ionóforos encontrados, somente monensina, salinomocina e lasalocida têm sido efetivamente utilizados. Esses aditivos são muito utilizados para animais em confinamento em função do grande aporte energético das dietas altamente concentradas. Como a maioria dos aditivos (e.g., ionóforos) atuam sobre as bactérias gram-positivas, é mais visível o seu potencial em animais em confinamento, atrelado também, ao uso de alimentos com maior teor energético. No entanto, o uso de aditivos para animais em pastejo têm despertado o interesse de pecuaristas, associado a sistemas mais intensificados onde se busca altas taxas de ganho de peso por animal. Em estudo desenvolvido por Siqueira et al. (2012) a inclusão de aditivos para animais em pastejo pode proporcionar um retorno de até R\$ 10,00 para cada real investido.

Como principal representante da categoria dos ionóforos, a monensina possui destaque em manipular o ambiente ruminal. De maneira geral, há considerável redução de metano quando se utiliza monensina. Embora a população metanogênica não seja diretamente inibida pela ação deste aditivo, a sua atividade é restringida pela redução do substrato disponível, devido ao limitado crescimento de bactérias produtoras de hidrogênio, as quais são sensíveis à ação de antibióticos ionóforos (Tedeschi et al. 2011). Além desses benefícios, a presença de antimicrobianos na alimentação de bovinos proporciona inibição de produtores de amônia e de produtores de lactato, aumentando a disponibilidade de proteína, com a manutenção do pH ruminal estável (Russel e Strobel 1989).

Além de aditivos ionóforos, os não-ionóforos (e.g., virginiamicina) também são eficazes, por inibir o crescimento de bactérias gram-positivas (Cocito 1979). Ainda que os não-ionóforos tenham estruturas químicas e modos de ação completamente diferentes dos ionóforos (Nagaraja et al. 1997), também são amplamente utilizados nas dietas de bovinos, também com o propósito de aumentar a eficiência alimentar e reduzir perdas produtivas.

O uso de aditivos em larga escala tem sido reportado desde a década de 70, com o intuito de melhorar a saúde e eficiência animal (Russel e Strobel 1989; Bretschneider et al. 2008). Além disso, estratégias para reduzir os impactos ambientais da atividade pecuária, como mitigação de metano e excreção de N, são constantemente demandados pela sociedade. De maneira geral, assume-se que a produção de metano é reduzida em torno de 30% quando monensina é utilizada, pela

sensibilidade da população metanogênica aos antibióticos ionóforos e não ionóforos. A sensibilidade e supressão nesta população decorre da redução de bactérias produtoras de  $H_2$ , substrato principal para o crescimento de bactérias metanogênicas.

O uso de agentes antimicrobianos pode proporcionar uma maior retenção de carbono e nitrogênio para o animal ruminante, uma vez que a produção de metano entérico representa uma perda energética significativa para o animal a nível microbiano (Callaway et al. 2003). Esta inabilidade, intrínseca ao metabolismo dos ruminantes, contribui diretamente para a produção final de gases danosos ao meio ambiente, entretanto, esta conjuntura pode ser alterada conforme a manipulação da dieta (Caro et al. 2016; Tedeschi et al. 2016). Dessa forma, há grande interesse em compreender e manipular o ambiente ruminal, para que os processos benéficos suprimam os ineficientes, possibilitando menores perdas produtivas e redução de impactos ao meio ambiente.

A grande preocupação dos nutricionistas com a produção pecuária é em decorrência do grande gasto energético que os bovinos demandam para transformar o alimento em carne ou leite. Adicionalmente, esta preocupação tem repercutido cada vez mais em questões ambientais, pois a produção de bovinos contribui com cerca de 18% das emissões antropogênicas globais de gases do efeito estufa (GEE), sendo o metano e o óxido nitroso os que mais significativos (Supamong et al. 2017).

A principal fonte de produção de metano, normalmente, advém da fermentação dos alimentos no rúmen por bactérias metanogênicas (Hristov et al. 2013). Os metanógenos no rúmen utilizam  $H_2$  e  $CO_2$  produzidos por outros microrganismos que habitam o ambiente ruminal, produzindo  $CH_4$ . Por sua vez, os metanógenos se inter-relacionam com os demais microrganismos ruminais, como protozoários, bactérias e fungos (Rother e Krzycki 2010; Vogels et al. 1990; Regarty e Klieve 1999), o que pode causar um efeito associativo na produção de metano. Como as emissões de metano são prejudiciais ao meio ambiente e à produtividade, as pesquisas sobre metanógenos ruminais têm sido cada vez mais frequentes. Conforme Patra et al. (2017), o objetivo desses estudos é compreender sua diversidade, estrutura de colônia, relação com os demais microrganismos e relação com a eficiência alimentar, emissão de metano e respostas a diferentes tipos de dietas que visam mitigar metano.

Em virtude do aumento das pressões ambientais e sociais para o consumo de alimento isentos de agentes com efeitos negativos a saúde humana e fonte de poluição ambiental. Uma das alternativas aos antibióticos são componentes vegetais

chamados de extratos de plantas, que podem exercer funções semelhantes aos promotores de crescimento para modular a fermentação ruminal e conseqüentemente gerar benefícios no desempenho. Inúmeras plantas contêm em sua estrutura compostos que as protegem de patógenos, sendo denominados de compostos secundários. Dentre esses compostos, podemos destacar os taninos, que estão presentes em algumas plantas e quando ingeridos em altas concentrações podem promover efeitos adversos aos microrganismos ruminais e na saúde do animal. No entanto, em doses baixas e moderadas podem melhorar a fermentação ruminal e a retenção de mais nutrientes aos bovinos, que refletirá em uma maior produção de carne e de leite (Berchielli et al. 2011).



### 2.3 Composto secundários de plantas na nutrição animal

Desde o início do século XXI, o interesse no uso de produtos naturais, os quais podem propiciar efeitos semelhantes aos antibióticos (Jouany e Morgavi 2007), tem motivado a realização de pesquisas na área de nutrição de ruminantes. Dessa forma, estudos com metabólitos secundários ao metabolismo vegetal despertaram o interesse dos pesquisadores. Conforme Taiz e Zieger (2004), compostos secundários são substâncias sem função definida aos processos bioquímicos primários dos vegetais. A finalidade na planta é de proteger contra o ataque de hospedeiros e patógenos, como bactérias, vírus e a ação de herbívoros.

Um dos propósitos na utilização de extratos de plantas como aditivos para bovinos é simular a função dos promotores de crescimento e manipular o ambiente ruminal para melhorar a eficiência no aproveitamento dos alimentos. Como medida segura e natural, estes compostos apresentam vantagem por terem ação antimicrobiana, devido a variabilidade de princípios ativos e diferentes modos de ação, oferecem baixo risco a resistência bacteriana (Acamovic e Brooker 2005). Compostos secundários de plantas podem ser classificados, de uma maneira geral, de acordo com a via de origem e estrutura, sendo terpenos, compostos fenólicos e alcaloides. Logo, os metabólitos com maior importância de estudo podem ser definidos como óleos essenciais, taninos e saponinas, que têm demonstrado relevância como moduladores da fermentação ruminal (Kozloski et al. 2012; Cieslak et al. 2012).

O grupamento de terpenóides é um amplo e variado, sendo os monoterpenos formados por duas unidades de  $C_5$  e podem representar cerca de 90% dos óleos essenciais. Além destes, a classe dos triterpenos ( $C_{30}$ ) abrange os compostos mais importantes desta categoria, como os esteroides, as saponinas triterpênicas e glicosídeos cardiotônicos (Bodas et al. 2012). O grupo dos fenóis são analisados nesta pesquisa na forma de taninos condensados e taninos hidrolisados, compostos que contém na sua estrutura pelo menos um anel aromático com uma ou mais hidroxilas. Além destes, os alcaloides são a terceira classe destes importantes metabólitos, que amplamente podem ser utilizados em compostos farmacológicos para uso em humanos.

Dentro do rúmen os compostos secundários podem afetar a metanogênese, inibindo o crescimento, desenvolvimento e atividade da população de metanógenos diretamente e indiretamente (reduzindo o número de protozoários associados a

metanógenos) (Patra et al. 2017). Além disso, os extratos também podem representar uma mudança na produção de propionato, o que afeta a metanogênese através da redução da concorrência pelo hidrogênio (Cieslak et al. 2013). Patra (2012) comenta que estes metabólitos secundários de plantas possuem atividade antimicrobiana. Nesse sentido, numerosos extratos de plantas foram identificados com potencial inibidor da metanogênese e produção de CH<sub>4</sub> (Patra e Saxena 2009; Cieslak et al. 2013), alavancando a possibilidade de utilização de compostos naturais na alimentação de ruminantes.

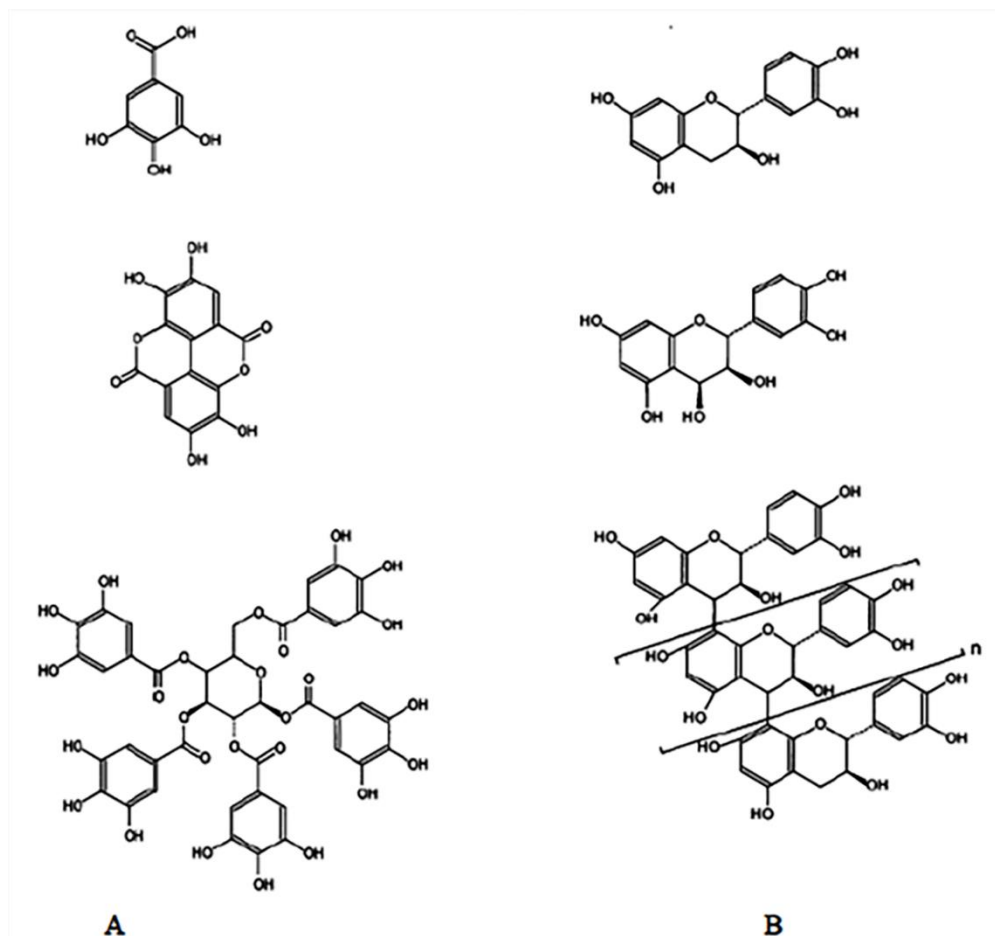
Tão logo as pesquisas avançaram, os taninos se destacaram entre as alternativas naturais. Eles podem ser associados à diversos efeitos benéficos na nutrição de ruminantes, inicialmente por reduzir os parasitas intestinais e com o passar dos anos descobriu-se que poderiam aumentar a absorção de aminoácidos no intestino delgado, além de reduzir a produção de metano (Woodward et al. 2001; Min et al. 2003), embora este fato não seja tão bem compreendido, os autores sugerem que pode haver efeito deletério com a utilização dos taninos sobre as bactérias metanogênicas, confirmando a afirmação de Scalbert (1991), em que a catequina (tanino condensado), quando na forma oxidada, é um agente altamente inibidor de bactérias produtoras de metano.

#### 2.4 Taninos

Os taninos nas plantas, são onipresentes na natureza e, apesar de sua importância e atenção tanto para organismos vivos, a palavra “tanino” é de difícil definição precisa. Ao passo que os compostos fenólicos, como fenólicos simples, neolignanós e flavonóides são categorizados e classificados de acordo com sua estrutura química, os taninos são um grupo múltiplo de compostos, usualmente são definidos como substâncias polifenólicas solúveis em água, de elevado peso molecular (500 e 3000µM), sendo suas ações relacionadas principalmente em sua capacidade de complexar com proteínas, alcalóides, polissacarídeos, ácidos nucleicos, esteróides e saponinas (Bate-Smith e Swain 1962; Haslam 1986; Fahey e Jung 1990). Porém, constantemente a literatura reporta mudanças sobre esta definição, ao passo que novas descobertas são encontradas (Mueller-Harvey e McAllan 1992).

Por serem compostos vegetais secundários, são encontrados em distintos lugares nas plantas, como nas paredes celulares ou abrigados dentro de vacúolos em

caules, cascas, folhas, flores, ou sementes, sobretudo em plantas dicotiledôneas (Barry 1989). Embora os taninos sejam quimicamente um amplo grupo e mal definido, é comumente dividido em em duas classes principais: os hidrossolúveis (HT) e os condensados (CT). Os HT são compostos polifenólicos (ácido gálico e/ou ácido hexahidroxidifenico) passíveis de hidrolisação quando em contato com ácido fraco em ambiente aquecido. Em contrapartida, CTs são polímeros de flavan-3-ol (e.g., catequina) ou flavan-3,4-diol (e.g., proantocianidinas), ligados por ligação carbônicas simples ou ligações éter para produzir compostos de diferentes pesos moleculares (Leinmuller et al. 1991). Os CT são sintetizados a partir de precursores do acetato e ácido chiquímico, rotas semelhantes àquelas de formação da lignina (McMahon et al. 1999). Diferentemente dos HTs, os CT podem ser oxidativamente degradados apenas por ácido mineral quente (McMahon et al. 1999), as estruturas químicas dos taninos podem ser exemplificadas na figura 1.



**Figura 1:** Componentes estruturais dos taninos. A (hidrolisados) e B (condensados) (Adaptado de McMahon et al. 1999)

#### 2.4.1. Efeitos dos taninos na produção animal

Até o presente momento os resultados positivos com a adição de taninos têm sido mais expressivos em estudos desenvolvidos *in vitro* e *in situ*. Estudos *in vitro* demonstram que a ação dos taninos é facilitada devido ao pH ruminal. O ambiente do rúmen possui pH entre 6 e 7, o que permite a formação do complexo tanino-proteína, altamente estável e forte, que por sua vez, pode ser destruído em pH mais ácido no abomaso (em torno de 3,5). Dessa forma, a extensiva degradação da proteína no rúmen é protegida pela formação deste complexo, que ao atingir o intestino delgado (pH em torno de 7,0) o aproveitamento dos aminoácidos será mais efetivo (Jones e Mangan 1977). Em princípio, devido a variabilidade de estruturas moleculares entre os taninos, esta complexação dos taninos com outras moléculas pode ocorrer de quatro formas: ligação de hidrogênio, ligação iônica, ligação hidrofóbica ou ligação covalente.

A evolução da estabilidade encontrada no complexo tanino-proteína devido ao pH foi observada com *Leucaena leucocephala*, entretanto não foi encontrada com *Lotus corniculatus* ou *L. pedunculatus* em que a dissociação não foi encontrada no intestino delgado devido a elevada estabilidade e não dissociação no intestino delgado (Mueller-Harvey 2006).

Efeitos prejudiciais dos taninos também podem ser verificados ao serem liberados nos intestinos, devido ao acoplamento com proteínas endógenas, enzimas, muco ou células do epitélio intestinal (Jouaney e Morgavi 2007). Mueller-Harvey (2018) comenta que os efeitos dos taninos possam ser mais pronunciados quando adicionados diretamente no rúmen ao invés de incluídos na ração. Tal fato pode ser explicado pela capacidade de algumas proteínas salivares, especialmente as glicoproteínas ricas em prolina, se ligarem aos taninos e diminuírem a sua atividade nociva no rúmen (Shimada 2006).

Os taninos podem afetar adversamente a digestão ruminal global (Barry e Manley 1986; Makkar et al. 1988; Barry e McNabb 1999), os CT demonstram potencialidade de mudança na partição de nutrientes durante a fermentação, de modo que há direcionamento maior para síntese de massa microbiana em detrimento de AGVs (Makkar 2003), logo, há aumento na eficiência de síntese de proteína microbiana (Jouaney e Morgavi 2007). A vista disso, o fornecimento de baixos e moderados teores de taninos nas dietas de ruminantes pode melhorar o desempenho

animal (Oliveira et al. 2008), por permitir maior aporte de proteína microbiana na digestão pós-ruminal. Estudo desenvolvido por Ngwa et al. (2002) indica que a inclusão de taninos associado a alimento volumoso para ovinos proporcionou efeitos benéficos, dado o aumento na absorção de aminoácidos no intestino delgado.

A inclusão de taninos a dietas de animais ruminantes pode favorecer a formação de complexos de tanino mais constituintes dietéticos como proteínas e carboidratos. Nestes casos, o desempenho melhora devido a facilidade do tanino em se ligar a estes componentes da dieta, em um ambiente favorável, como o pH ruminal. Mas vale ressaltar que nem sempre estes efeitos benéficos são efetivamente verificados, especialmente pela diversidade e particularidades de cada alimento e do próprio tanino.

Como comentado anteriormente, os efeitos benéficos dos taninos nem sempre são observados, por uma série de fatores, entre eles, quando adicionados em doses mais elevadas, a literatura reporta reduções no consumo de matéria seca (Landau et al. 2000; Frutos et al. 2002; Guimarães-Beelen et al. 2006). Os efeitos deletérios sobre o DMI podem estar associados à sua estrutura e fonte (Makkar 2003). Diferentes origens de plantas e extratos de taninos são encontradas na natureza, sendo os estudos mais abundantes com extratos de taninos condensados. Tanto em estudos para bovinos de corte como para vacas de leite a supressão no CMS é notado, segundo estudo de Grainger et al. (2009) utilizando extrato de tanino de *Acacia mearnsii* para vacas lactantes na dose de 0,9 a 1,8% MS reduziu o DMI mesmo na dose mais baixa, esta redução também diminuiu a de leite.

O uso de taninos em vacas lactantes tem sido amplamente estudado. Dscchaak et al. (2011) relataram uma redução no DMI, mas sem alteração na produção de leite ou digestibilidade quando as vacas foram alimentadas com 3% da MS na dieta com extrato de Quebracho (*Schinopsis spp*). Em outro estudo, Ahnert et al. (2015) observaram redução na digestibilidade dos nutrientes quando o mesmo extrato foi utilizado a 4 e 6% da MS na dieta, porém quando suplementadas a 1 e 2%, o efeito não foi identificado. Embora alguns fatores não alterem com a suplementação de taninos na dieta de vacas de leite, hipoteticamente observa-se que há redução na excreção de N urinário (Aguerre et al. 2020), possivelmente pela alteração da rota para as fezes, como também foi observado por Herremans et al. (2020). Vale ressaltar que quando se utiliza taninos, o nível de proteína na dieta deve ser considerado,

devido a possibilidade de formação de complexo tanino-proteína no rúmen (Makkar 2003).

Embora em alguns estudos possa ocorrer efeitos deletérios no consumo, como em estudo desenvolvido por Beauchamin et al. (2007) utilizando extrato de quebracho (90% CT), não foi demonstrada redução no DMI para bovinos de corte nas doses de 0%, 15 e 20% da MS. Perna Junior et al. (2017) utilizando doses baixas de *Acacia mearnsii* (0,6% de MS) também não identificou o efeito sobre o consumo de matéria seca. Devido a variabilidade de resultados na literatura sobre o DMI tanto para redução bem como para ausência de efeito. Nesse sentido, há a necessidade de uma abordagem mais ampla para se obter conclusões mais robustas sobre este parâmetro, verificando com cuidado os tipos de alimentos inclusos nas dietas.

A ampla utilização de taninos na alimentação de bovinos é observada na literatura, desde seu uso para modular a fermentação em vacas de leite, fornecimento a bezerros em crescimento, e até para bovinos de corte em terminação (Rivera-Méndez et al. 2017). Algumas premissas têm sido utilizadas para a razão do emprego dos taninos, por exemplo, o efeito com doses moderadas pode promover aumento do fluxo de aminoácidos para o intestino delgado (Barry e McNabb 1999; Min et al. 2003), por isto, o efeito dos taninos pode elucidar as melhorias no desempenho de bezerros confinados durante a recria (Barajas et al. 2010). Não é consenso na literatura, o efeito do aumento ou da redução no DMI, ganho de peso e produção de leite na presença de taninos, contudo, pressupõe-se que existam esses efeitos diretos nestes parâmetros, porque o seu uso pode melhorar ou modificar a fermentação de nutrientes, suprimindo proteína metabolizável para o intestino delgado, por exemplo (Rivera-Méndez et al. 2017).

Em decorrência da variabilidade de resultados obtidos nos estudos com dietas altamente volumosas, como reportado em diferentes espécies (cabras – Puchala et al. 2005; cordeiros – Douglas et al. 1995 e em vacas - Woodward et al. 2000), em que se obteve diferenças significativas e deletérias no DMI e conseqüentemente no ganho de peso, há a necessidade de uma compilação ajustada e analítica para compreender o efeito dos taninos sobre este parâmetro.

#### 2.4.2. *Efeitos dos taninos na fermentação ruminal*

Um dos grandes desafios da nutrição de ruminantes é minimizar a excreção de nutrientes para o ambiente. Essa perda ocorre durante o processo de fermentação, pela formação de compostos, como metano e nitrogênio advindo da amônia (Kumar et al. 2013). A redução da degradabilidade ruminal da proteína, sem afetar a digestibilidade intestinal, têm sido uma temática importante na nutrição de ruminantes (Orlandi et al. 2015). O uso de taninos pode reduzir a perda de N, pela sua interação com os peptídeos, com diminuição na degradação ruminal de proteínas e nas perdas de N urinário (Atkinson et al. 2007; Pina et al. 2009; Herremans et al. 2020). Entretanto, as variações na dieta (volumoso e/ou concentrado) e dosagem destes compostos aumentam a variabilidade dos resultados.

O uso de taninos, especialmente os condensados, possui potencial para alterar a fermentação ruminal pela formação de ligações de hidrogênio com a proteína formando um complexo tanino-proteína (CTP). Como já mencionado, esse complexo é favorável em pH ruminal (Makkar 2003) e atua diretamente na redução da degradação da proteína. Além do pH, é também essencial a presença de nutrientes, como cálcio, magnésio, sódio e potássio para a formação do CTP (Perez-Maldonado 1995). Adicionalmente, as interações hidrófobas entre os anéis fenólicos e porções de proteína ou aminoácidos também podem determinar a força de associação. Taninos condensados também podem precipitar com carboidratos, tais como os presentes em glicoproteínas, mas comumente com uma afinidade mais baixa em relação à proteína (Barry 1989).

A inibição do crescimento de bactéria metanogênicas advém dos efeitos bacteriostáticos e bactericidas dos CT (Tenvedale et al (2005) e pela inoperação de *Methanobrevibacter ruminantium* (Tevendale et al. 2011). Bhatta et al. (2009) utilizando um blend de CT e HT sugeriram que essa redução decorre, diretamente, pelo decréscimo na população de protozoários e metanogênicos, diminuindo a simbiose entre eles. No entanto, Goel e Makkar (2012) demonstraram que a atuação dos HT na supressão da metanogênese é mais acentuada que os CT. Fagundes et al. (2020) também com extrato de acácia encontrou essa redução em gado zebuino em sistemas tropicais. Esses estudos, indicam a inclusão em dietas para bovinos, de CT ou HT, porém, mesmo com doses semelhantes as respostas são diversas e, por vezes, inconsistentes (Patra et al. 2017).

Porém, diferentes fontes e doses de taninos podem ser complicar as análises microbiológicas do efeito desses no ambiente ruminal (Patra 2012). Isto decorre

também em função da diferença no potencial de ação do CT e HT. Por isso, as pesquisas com taninos sobre populações microbianas, tanto em condições *in vivo* como *in vitro*, apresentam resultados inconclusivos (Tavendale et al. 2005; Bhatta et al. 2009; Szumacher-Strabel et al. 2011; Cieslak et al. 2012).

Estudos desenvolvidos por Carulla et al. (2005) e Grainger et al. (2009) demonstraram uma redução na metanogênese, com extrato de *Acacia mearnsii* em ovinos e conseqüentemente uma supressão na produção de metano de 10 e 30% respectivamente. Outros estudos encontraram uma faixa mais ampla de redução, de até 58% (Patra e Saxena 2010; Bodas et al. 2012). Essas discrepâncias estão relacionadas principalmente às diferentes fontes e tipos de taninos utilizados nos experimentos (Cieslak et al. 2013).

As interações entre o mecanismo de ação dos taninos e o alimento também ainda não são claras, com poucos relatos na literatura. Apenas em 2011 foi proposto o primeiro modelo conceitual da forma de ação de CT no rúmen (Tedeschi et al. 2011). Dessa forma, são necessários estudos mais detalhados quanto ao modo de ação e efeitos dos taninos, bem como, compreender qual tipo de alimento é mais bem ajustado aos efeitos benéficos, e então apontar suas conseqüências para o ambiente ruminal e respostas produtivas.



### **3. Hipóteses**

- 1) Os taninos afetam o consumo de matéria seca e ganho de peso de bovinos de corte.
- 2) Os taninos afetam a produção de leite e consumo de matéria seca em bovinos de leite.
- 3) Os taninos afetam os parâmetros ruminais, como produção de ácidos graxos de cadeia curta, reduzem a produção de metano, concentração de nitrogênio amoniacal e digestibilidade da matéria seca.

### **4. Objetivo geral**

- 1) Avaliar os dados disponíveis na literatura sobre taninos e seus efeitos no desempenho e parâmetros ruminais de bovinos de corte e de leite, conforme a fonte (natural ou extrato), concentração total de tanino na planta, tipo (CT, HT ou blend) e dose.

#### **4.1 Objetivos específicos**

- 1) Sumarizar os efeitos dos taninos sobre o ganho de peso, consumo de matéria seca e produção de leite.
- 2) Sumarizar os efeitos dos taninos sobre parâmetros ruminais (produção total de ácidos graxos de cadeia curta, concentração de nitrogênio amoniacal, produção de metano e digestibilidade da matéria seca).

## CAPÍTULO II

1 **Effect of dietary tannins on cattle performance: A meta-analysis**

2 D. D. Brutti<sup>1</sup>, M. E. A. Canozzi<sup>2</sup>, D. Zago<sup>1</sup>, M. K. Rocha<sup>1</sup>, V. Lima<sup>1</sup>, E. D. Sartori<sup>1</sup>, T. E.

3 Oliveira<sup>1</sup>, J. O. J. Barcellos<sup>1,\*</sup>

4 <sup>1</sup>*Department of Animal Science, Federal University of Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves n. 7712,*  
5 *91540-000, Porto Alegre, RS, Brazil.*

6 <sup>2</sup>*Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). Programa Producción de Carne y Lana.*  
7 *Estación Experimental INIA La Estanzuela. Ruta 50, km 11, 39173, Colonia, Uruguay.*

8

9 \* **Author for correspondence:** Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do  
10 Sul. Av. Bento Gonçalves n. 7712, 91540-000, Porto Alegre, RS, Brazil. Phone: +55 51 3308 6042. E-  
11 mail:[julio.barcellos@ufrgs.br](mailto:julio.barcellos@ufrgs.br)

## 12 **Effect of dietary tannins on cattle performance: A meta-analysis**

13

### 14 **Abstract**

15 This systematic review-meta-analysis (MA) seeks to estimate the impact of the inclusion of  
16 tannins in beef and dairy cattle diets on dry matter intake (DMI), average daily weight gain  
17 (ADG – beef cattle) and milk yield (MY – dairy cattle) and describe its effects according to  
18 types (condensed, CT, or hydrolyzate, HT, or blend), concentrations (at source), sources  
19 (natural or extract) and doses. The search was carried out in five electronic databases - CAB-  
20 Abstracts, PubMed, Scopus, Science Direct and Web of Science. Pre-defined protocols were  
21 used at all stages of the systematic review process. A MA for random effects was performed  
22 for each indicator separately with the average difference between the control (without tannin)  
23 and treated (with tannin) groups. For this study, 30 papers were included, of which 29 were for  
24 DMI, eight for ADG and 13 for MY. The inclusion of total tannin in concentrations lower than  
25 100 g/kg tended ( $P = 0.052$ ) to increase DMI in beef cattle compared to animals that did not  
26 receive tannin in the diet; however, the use of tannin did not influence the ADG. The MY with  
27 the inclusion of a blend - into a source extract - increased MY by 1.458 kg/d ( $P = 0.023$ ) in  
28 relation to cows without tannin in the diet. Our MA showed that the inclusion of tannins in the  
29 diet of beef and dairy cattle did not have negative effects on DMI, ADG and MY. Extracts-  
30 blends allow greater effects in DMI and MY in dairy cattle. The main effects in performance  
31 are related to the interaction of tannins with the composition of diets.

32

33 **Keywords:** natural feed additives, nutriion, polyphenols, plant extracts, ruminant

34

35

## 36 **Introduction**

37 Technological advances in ruminant nutrition have allowed a transition from a dietary  
38 pattern rich in crude fiber to a diet with high concentrate proportions. This fact is predominantly  
39 linked to the inclusion of feed additives, which balance the pH in the rumen over the  
40 fermentation process and increase animal performance by providing more energetic diets.  
41 Unfortunately, most of these additives are synthetic, which may generate negative consumer  
42 perceptions because of the possibility of the presence of residues in food (Jouany and Morgavi,  
43 2007; Clark *et al.* 2012; Tedeschi *et al.* 2011). Therefore, studies are searching for natural  
44 additives, such as secondary plant compounds, with an emphasis on tannins.

45 Tannins are natural polyphenols with high chemical complexities and molecular weights,  
46 present in a variety of plants that can influence the nutritional quality of food consumed by  
47 humans and animals (Robbins *et al.* 1987; Mueller-Harvey, 2006). In cattle nutrition, studies  
48 have sought to elucidate the potential for manipulation of the ruminal environment to improve  
49 digestive functions with the inclusion of tannins (Vasta *et al.* 2019).

50 Additionally, the main attributes for the use of tannins in diets are related to the reduction of  
51 methane levels (Carulla *et al.* 2005; Stewart *et al.* 2019), direct inhibition of methanogenic  
52 bacteria activity, indirect reduction of fiber digestion and protozoa populations in the rumen  
53 (Patra *et al.* 2012), greater efficiency in the use of N in the ruminal environment (Mezzomo *et*  
54 *al.* 2017), and increased anthelmintic activity (Azuhwi *et al.* 2013; Hoste *et al.* 2006).  
55 However, other studies have shown a reduction in palatability, intake, and digestibility of dry  
56 matter (DM), proteins, and carbohydrates (Graiger *et al.* 2009; Naumman *et al.* 2017) when  
57 tannins were included in cattle diets. These factors may negatively affect the performance of  
58 supplemented animals. In general, it has been mentioned that condensed tannins (CT),  
59 hydrolyzed (HT) and/or tannins blended (blend) in low to moderate amounts, 2 to 4% DM of

60 the diet, would not influence the intake (Wang *et al.* 1994; Waghorn, 1990; Waghorn *et al.*  
61 1987).

62 On the other hand, doses above 5% may restrict or decrease the same nutritional parameters  
63 (McMahon *et al.* 1999; Guimarães-Beelen *et al.* 2006; Frutos *et al.* 2002; Landau *et al.* 2000).  
64 Studies by Sliwinski *et al.* (2004) and Benchaar *et al.* (2008) found no effect of the inclusion  
65 of chestnut (*Castanea sativa*) or *Quebracho*<sup>1</sup> (*Schinopsis* spp.) tannins on dry matter intake  
66 (DMI) or milk yield (MY) in cows that were supplied at 0.49 or 1.00% of dietary DM. However,  
67 the addition of *Quebracho* tannins over 3% of dietary DM reduced the DMI of lactating cows  
68 (Dschaak *et al.* 2011). This inconsistency can lead to a misguided analysis of the potential use  
69 of tannins in diets for cattle. This confusion is it is caused by intrinsic factors related to tannins  
70 structure associated with dietary factors, that can determine beneficial or harmful effects on  
71 cattle production. Therefore, we summarized the effect of tannins on cattle performance and  
72 describe their effects according to type (CT, HT, or blend), concentrations (at source), sources  
73 (natural or extract), and doses by systematic review and meta-analysis (MA).

74

## 75 **Methods**

### 76 *Search protocol strategy, and article selection*

77 The search strategy was based on the population, intervention, and comparator. The  
78 population used was beef (steers, heifers, calves) and dairy cattle (lactating and/or gestating  
79 cows and heifers). The intervention included supplementation and/or inclusion of tannins in the  
80 diet of cattle. The comparator was defined as diets without tannins (control). To obtain the  
81 largest number of relevant studies on the subject, bearing in mind that the tested population is  
82 different in terms of product (beef versus dairy), the results of interest were not included in the  
83 search strategy.

---

<sup>1</sup> *Quebracho* (*Schinopsis* spp.) is botanical genus of trees native South America

84 Relevant studies included the population and intervention of interest. Previously, a search  
85 protocol was developed and tested, for each screening tool and methodological approach  
86 adapted from forms developed in previous studies (Mederos *et al.* 2012; Canozzi *et al.* 2017;  
87 Sartori *et al.* 2017, 2020; Zago *et al.* 2019).

88 The search terms and algorithms were summarized for population and intervention of  
89 interest as follows: bovine OR "beef cattle" OR "dairy cattle" OR steer OR cow\* OR heifer\*  
90 OR calves AND tannin\* OR "condensed tannin" OR "hydrolysable tannin" OR phytochemicals  
91 OR tannins OR "tannic acid" OR "plant extract" OR chestnut OR quebracho OR acacia OR  
92 sainfoin OR "natural feed additives". Relevant publications on performance (*e.g.*, DMI, ADG,  
93 and MY) and ruminal parameters (*e.g.*, methane emission, ammoniacal nitrogen, digestibility  
94 of DM, and production of volatile fatty acids) were retrieved; however, the last indicators were  
95 not included in this manuscript because of the scope of the study.

96 The search was carried out in August 2018 and updated in January 2019 using five electronic  
97 databases: Scopus (Elsevier, 1960-2019), Web of Science (Clarivate Analytics, 1945-2019),  
98 PubMed (1940-2019), ScienceDirect (Elsevier, 1960-2019), and CAB-abstracts (Thomson  
99 Reuters, 1910-2019). Manuscript collection was validated by manually searching the reference  
100 lists of three literature reviews on tannin supplementation in ruminants (Makkar 2003;  
101 Jayanegara *et al.* 2012; Huang *et al.* 2018). EndNote Web<sup>®</sup> (Clarivate Analytics, Philadelphia,  
102 PA, USA) was used to organize and remove duplicate references.

103 The first filter was performed by the main author, excluding titles and duplicates. A second  
104 screening was conducted by three trained reviewers using title and abstract information,  
105 according to the following premises: 1) Does this abstract explore primary research? 2) Does  
106 this abstract test tannin in the nutrition of beef or dairy cattle? and 3) Does this abstract  
107 investigate performance or ruminal parameters? The manuscript was disregarded when all  
108 reviewers answered "no" to one or more premises. In case of disagreements between two

109 reviewers, the inclusion was settled by discussion, if an agreement was not reached, another  
110 reviewer was consulted. Microsoft Excel<sup>®</sup> was used for all the screening steps.

111

### 112 *Methodological assessment and data extraction process*

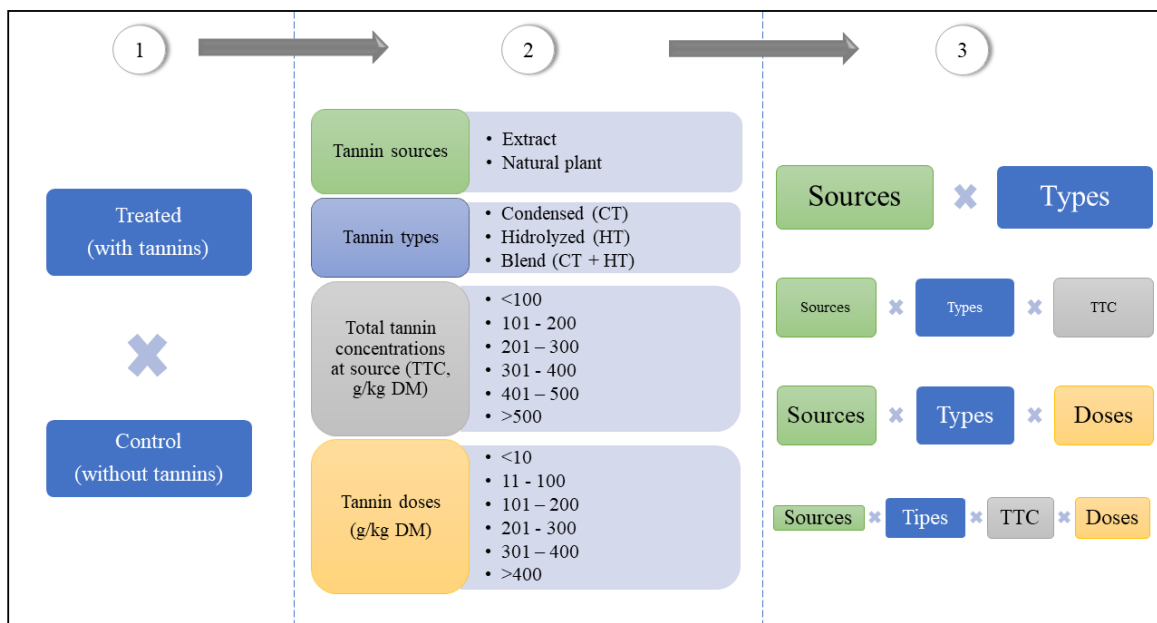
113 A data extraction form was adapted from previous scientific models (Canozzi *et al.* 2017).  
114 To include as much detail as possible, manuscripts that reported more than one study were  
115 duplicated and data were extracted separately. The information extracted from each study was  
116 then divided into specific information (population and intervention) and general information  
117 (authors, year of publication, and original language: papers in English, Portuguese, and  
118 Spanish).

119 For each outcome, a database was constructed to include the mean, standard error of the  
120 mean, or other available dispersion measures, the probability value (*P*), and the number of  
121 animals evaluated in each group (control and treatment).

122 To compare the influence of tannin on each outcome, we analyzed: tannin sources (extract or  
123 naturally contained in the plant); type of tannin (condensed, hydrolyzed or blend; total tannin  
124 (concentration of natural tannin or extract); and dose inserted in the diet (concentration in g/kg  
125 DM of tannin). As there was variability in the total tannin concentrations in the plant or in the  
126 extract, as well as in the doses, these were standardized and categorized among similar extracts  
127 (Figure 1).

128





129

130 **Figure 1.** Sequence of variables analyzed in the meta-analysis with source, type, total  
 131 concentration, and dose of tannin in the diet of beef and dairy cattle, following: 1) treated versus  
 132 control analysis; 2) analysis of subgroups and 3) interactions between subgroups.

133

134 Only the data contained in the publications were collected, with no outcomes being  
 135 calculated or estimated. Data from studies with polyethylene glycol (PEG) treatment were not  
 136 included, since this compound is recognized as a potent tannin-deactivating agent (Kondo *et al.*  
 137 2014).

138

139 The pooled standard deviation ( $Sp$ ) was obtained when the overall standard error of the mean  
 140 ( $SEMp$ ) was mentioned for the control and treatment groups (Ceballos *et al.* 2009; Higgins and  
 141 Green 2011; Mederos *et al.* 2012):

142

143

$$Sp = SEM_p \times \sqrt{n_p}$$

144

145 where  $n_p$  is the number of animals in the treatment and control groups. Evaluations were made  
146 on the results of DMI, ADG, and MY, expressed in kg per day (kg/d). DM was considered  
147 separately for beef and dairy.

148

#### 149 *Meta-analysis*

150 The mean difference (MD) was estimated between control and treated groups, and a 95%  
151 confidence interval (CI) was considered. Considering the probable differences in experimental  
152 designs between studies, the heterogeneity was assumed and estimated using the DerSimonian  
153 and Laird method (DerSimonian and Laird, 1986). Hence, a negative value can be interpreted  
154 as a significant increase in the treatment compared to the control for DMI, ADG, and MY.

155 Each outcome was assessed separately as a group, and a combined effect of MD and 95%  
156 CI (forest plot) was generated. Heterogeneity was assessed using Cochran's Q test (chi-square  
157 heterogeneity test) and  $I^2$  (percentage of total variation between studies due to heterogeneity  
158 rather than chance) was calculated based on the results. The DMI for beef and dairy was  
159 analyzed separately to avoid under- and over- estimations. The magnitude of  $I^2$  was considered  
160 low, moderate, or high heterogeneity when the values were in the order of 25, 50, and 75%,  
161 respectively (Higgins *et al.* 2003). The software Stata V 14.0 (Stata Corp., Texas, USA) was  
162 used for all statistical analyses, the differences were considered significant at  $P < 0.05$  and the  
163 trends were defined at  $0.05 \leq P < 0.1$ .

164

#### 165 *Meta-regression*

166 In the presence of heterogeneity, a univariable regression model of random effects was  
167 developed (Borenstein *et al.* 2009). To explore possible sources of heterogeneity, the variables  
168 of publication year, continent (North America, Central America, South America, Europe, or  
169 Asia), production system (pasture, semi-confinement, and feedlot), gender, cattle species (*Bos*  
170 *taurus*, *Bos indicus*, or crossbred), initial weight (kg), percentage of forage in the diet, neutral

171 diet detergent fiber (NDF; g/kg), crude dietary protein (CP; g/kg), diet energy (high, medium,  
172 or low, (by NRC, 2000; 2001), randomization (no or yes), cluster control (no, yes, or not  
173 applicable), confounders identified and controlled (no, yes, or not applicable), blinding, days  
174 with intervention (days with tannin), tannin source (natural or extract), tannin total  
175 concentration in the source, tannin type (HT, CT, or blend), and dose included in the diet. The  
176 variables were analyzed separately because of the reduced number of studies for each outcome.

177

### 178 *Cumulative MA and sensitivity analysis*

179 The most common cumulative MA are those performed considering the year of manuscript  
180 publication, for example, a chronological evaluation. In this analysis, a new MD is obtained  
181 each time a new study is added to the database. However, no significant chronological effects  
182 were observed.

183 Sensitivity analyses were conducted to verify whether the studies influenced the measure of  
184 effect on the MD, by manually removing one study at a time and evaluating whether the MD  
185 varied by  $\pm 30\%$  before including the next study (Egger *et al.* 2001; Borenstein *et al.* 2009).  
186 The effect of removing studies is described in Appendix A.

187

### 188 *Assessment of publication bias and risk of bias on individual study*

189 Funnel plots were visually evaluated, and data were analyzed by Begg's correlation and  
190 Egger's linear regression tests for each outcome of interest. The method "trim and fill" was  
191 applied when there was some evidence of publication bias ( $P < 0.10$ ) to estimate the extent of  
192 the bias (Duval and Tweedie, 2000).

193 The risk of bias on individual study bias in the studies was assessed according to by Cochrane  
194 Collaboration Risk of Bias Toll (Higgins and Green 2011). However, the evaluated studies

195 failed to report the information necessary for the application of the protocol. Thus, the risk of  
196 bias was considered low in all the studies (Appendix B).

197

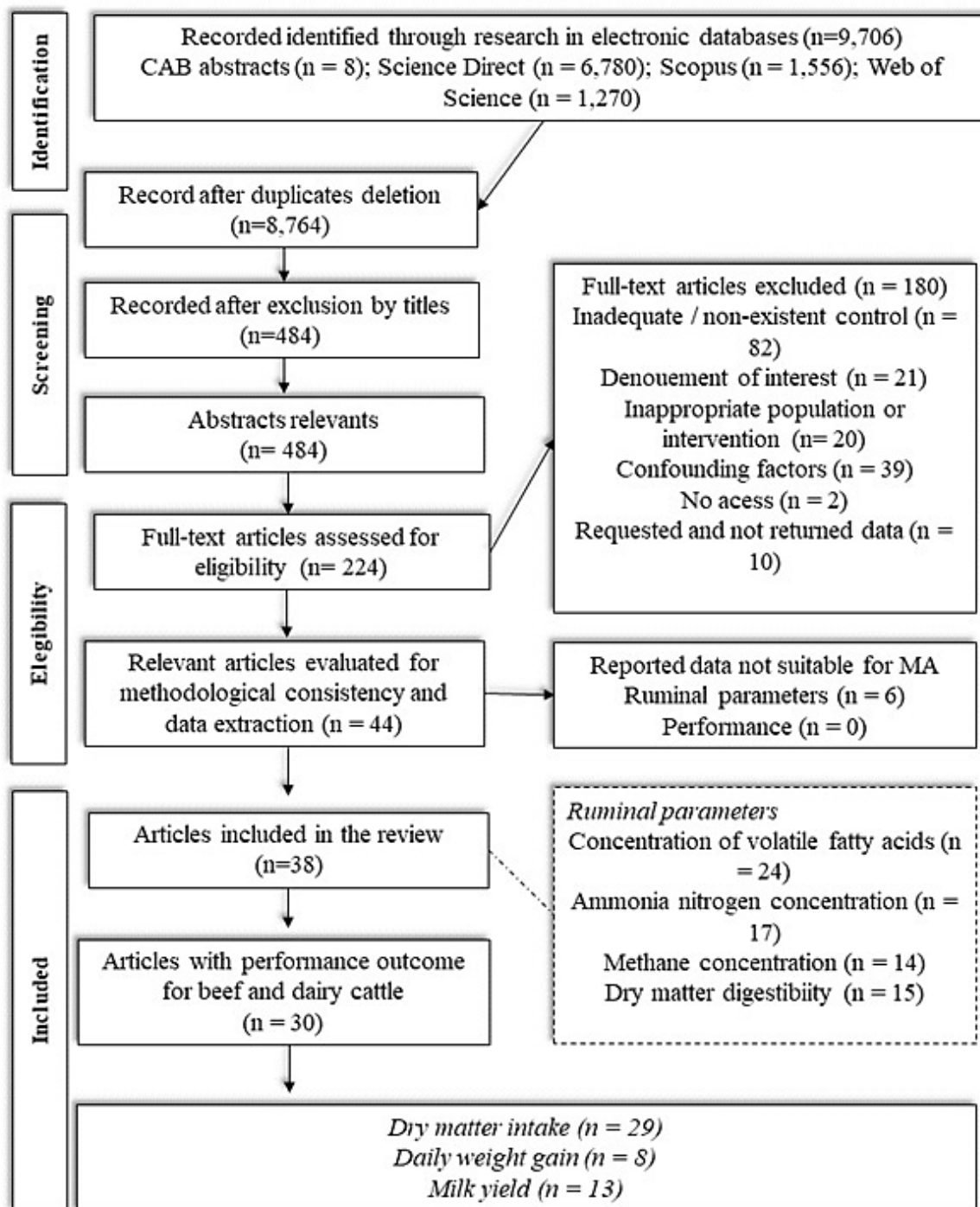
## 198 **Results**

199 A total of 9,706 citations were found in the five databases. Of these, 168 were excluded after  
200 methodological validation and data extraction and 484 were considered relevant. Of the  
201 remaining publications, 180 did not report sufficient data to perform the MA. Finally, 30  
202 studies<sup>2</sup> were included (Figure 2) to evaluate DMI (n = 29), ADG (n = 8), and MY (n = 13).  
203 Regarding animal category, 21 studies were on beef cattle, and 28 were on dairy cattle. As for  
204 the intervention, 20 studies evaluated the inclusion of CT in the diet, three the inclusion of HT,  
205 and seven evaluated the blend (Appendix C and D).

206

---

<sup>2</sup>One publication can report more than one study, and each study is composed by one or more trials (comparisons).



207  
 208 **Figure 2.** Flow diagram indicating the number of abstracts and publications included and  
 209 excluded in each level of the systematic review on the tannin on nutrition of beef and dairy  
 210 cattle and effects on performance. **Source:** adapted from Moher *et al.* (2009).

211

212 *Beef cattle – DMI and ADG*

213 In general, the inclusion of tannins did not affect the DMI of beef cattle when the total  
 214 concentration, source, type, and dose of tannin were tested ( $P = 0.474$ ;  $I^2 = 35.9\%$ ; Table 1).

215 **Table 1.** Dry matter intake and average daily gain in beef cattle according to source tannin, type tannin, total concentration tannin and dose  
 216 tannin

Variables	DMI				ADG			
	Studies (trials)	MD <sup>a</sup> (P)	95% CI <sup>b</sup>	I <sup>2</sup> (%)	Studies (trials)	MD <sup>a</sup> (P)	95% CI <sup>b</sup>	I <sup>2</sup> (%)
		(0.474)		35.9		(0.360)		0.00
Source tannin								
<i>Extract</i>	12 (31)	-0.029 (0.793)	-0.245; 0.187	29.5	7 (19)	-0.046 (0.653)	-0.249; 0.156	0.00
<i>Natural tannin</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
Type tannin								
<i>Condensed</i>	11 (25)	-0.125 (0.409)	-0.421; 0.171	42.9	5 (10)	-0.032 (0.833)	-0.326; 0.263	0.00
<i>Hydrolyzed</i>	-	-	-	-	2 (3)	0.293 (0.570)	-0.304; 0.553	0.00
<i>Blend</i>	2 (5)	-0.154 (0.442)	-0.546; 0.238	0.00	3 (8)	-0.320 (0.078)	-0.675; 0.036	6.10
Total concentration tannin (g/kg DM)								
<100	6 (14)	-0.397 (0.055)	-0.804; 0.009	57.4	4 (11)	-0.234 (0.134)	-0.541; 0.072	13.3
101 – 201	-	-	-	-	-	-	-	-
>500	6 (15)	0.089 (0.492)	-0.165; 0.344	0.00	4 (9)	0.094 (0.523)	-0.195; 0.383	0.00
Dose tannin (g/kg DM)								
<10	6 (14)	0.189 (0.178)	0.086; 0.464	0.00	4 (7)	0.038 (0.178)	0.264; 0.341	0.00
11 – 100	7 (13)	-0.151 (0.473)	-0.564; 0.262	55.1	7 (13)	-0.085 (0.473)	-0.416; 0.246	16.8
101 - 200	2 (2)	0.031 (0.939)	0.770; 0.832	0.00	2 (3)	-0.302 (0.939)	-1.040; 0.437	21.8
201 – 300	-	-	-	-	-	-	-	-
301 – 400	2 (2)	-0.673 (0.318)	-1.993; 0.648	49.5	-	-	-	-
>400	3 (4)	-0.530 (0.094)	-1.151; 0.090	16.2	-	-	-	-

217 <sup>a</sup> Expressed in kg/d; <sup>b</sup> 95% confidence interval.  $P=0.05$  and tendency ( $0.05 \leq P < 0.1$ ).

218

219 There was no effect on DMI ( $P = 0.474$ ;  $I^2 = 39.4\%$ ) in the analysis of subgroups (type of  
220 source - natural plant or extract). Exploring the possible effects within the sources, when testing  
221 types of tannins in an extract source, no difference was observed for the three types of tannins  
222 (CT, HT, or blend,  $P = 0.793$ ), with low heterogeneity for CT ( $I^2 = 37.5\%$ ) and null for HT and  
223 blend ( $I^2 = 0\%$ ).

224 For effects of tannins types, there was no difference for CT ( $n = 25$  trials;  $MD = -0.125$ ;  
225 95% CI  $-0.421, 0.171$ ;  $P = 0.409$ ), with moderate heterogeneity ( $I^2 = 42.9\%$ ). A low number of  
226 studies have been identified for HT and blend ( $n = 3$  and  $n = 5$  respectively), however,  
227 heterogeneity was null ( $I^2 = 0\%$ ), which allows greater security in the interpretation of this  
228 result.

229 When total tannin concentrations were low, regardless of the source, the DMI tended to be  
230 higher for beef in the treated group than in the control group ( $n = 15$  trials;  $MD = -0.397$  kg/d;  
231 95% CI  $-0.804, 0.009$ ;  $P = 0.055$ ), with moderate heterogeneity ( $I^2 = 57.4\%$ ). The DMI tended  
232 to be 0.530 kg/d higher ( $P = 0.094$ ) in the treated group when doses were above 400 g/kg.  
233 However, the number of trials included in this analysis was small ( $n = 4$ ), with low  
234 heterogeneity ( $I^2 = 16.2\%$ ).

235 When verifying the effect of the total tannin concentration within sources and types, no  
236 effects were identified for CT, HT, or blend ( $P = 0.750$ ;  $P = 0.184$ ;  $P = 0.442$ ). While testing  
237 the effects of total tannin concentration within sources and doses, HT-extract at a dose less than  
238 10 g/kg DM caused the DMI ( $P = 0.08$ ) to increase 0.485 kg/d in the treatment in relation to  
239 the control however, there was no heterogeneity ( $I^2 = 0\%$ ). The effects between sources, types,  
240 total concentrations, and doses of tannins, were not different ( $P = 0.143$ ), with null  
241 heterogeneity ( $I^2 = 0\%$ ).

242 This reduction did not affect ADG when considering all eight studies ( $n = 21$  trials;  $P =$   
243  $0.474$ ;  $I^2 = 35.9\%$ ; Table 1). The ADG tended to increase by 3.2% in the group supplemented

244 with tannins ( $P = 0.078$ ) compared to those not supplemented ( $n = 8$  trials; 95% CI -0.675,  
245 0.036), when evaluating the extract source of the blend type, with low heterogeneity ( $I^2 = 6.1\%$ ).

246

#### 247 *Dairy cattle – DMI and MY*

248 Regardless of the source and type of tannin, it was not significant for dairy (Table 2).  
249 Exploring the subgroups, studies that contained naturally occurring tannins and those that did  
250 not quantify the total tannin concentration tended to affect DMI ( $n = 13$  trials; MD = -0.539;  
251 95% CI -1.154, 0.075;  $P = 0.085$ ), with high heterogeneity ( $I^2 = 78.5\%$ ).

252 When evaluating the effects of tannin type within sources, it was observed that the blend  
253 type (CT + HT) in the extract source, trend to increase the DMI ( $n = 11$  trials; MD = -0.634;  
254 95% CI -1.359, 0.092;  $P = 0.087$ ), with high heterogeneity ( $I^2 = 80.0\%$ ). Similarly, when  
255 analyzing the effects of subgroup sources, types, and concentrations of total tannins, did not  
256 affected intake ( $P = 0.087$ ). DMI was greater with a source of extract blend (CT + HT),  
257 regardless of the total tannin concentration ( $n = 6$  trials; MD = -0.634; 95% CI -1.359, 0.092),  
258 with high heterogeneity ( $I^2 = 80.0\%$ ).

259 However, studies the did not reported the total concentration of tannin at source, the DMI  
260 was significantly higher ( $n = 5$  trials; MD = -0.612; 95% CI -1.043, -0.182;  $P = 0.005$ ), with  
261 null heterogeneity ( $I^2 = 0\%$ ). DMI tended to increase ( $P = 0.087$ ) regardless of the tannin dose  
262 used for both extract and blend types, ( $n = 8$  trials; MD = -0.634; 95% CI -1.359, 0.092), with  
263 high heterogeneity ( $I^2 = 80.0\%$ ).



264 Table 2. Dry matter intake and milk yield in dairy cattle according to source tannin, type tannin, total concentration tannin and dose tannin

Variable	DMI				MY			
	Studies (trials)	MD <sup>a</sup> (P)	95% CI <sup>b</sup>	I <sup>2</sup> (%)	Studies (trials)	MD <sup>a</sup> (P)	95% CI <sup>b</sup>	I <sup>2</sup> (%)
		(0.143)		53.2		(0.089)		53.2
Source tannin								
<i>Extract</i>	10 (21)	-0.268 (0.174)	-0.653; 0.118	65.5	10 (18)	-0.413 (0.092)	-0.892; 0.067	77.4
<i>Naturally plant</i>	6 (13)	-0.156 (0.315)	-0.460; 0.148	3.50	3 (5)	-0.231 (0.354)	-0.721; 0.258	0.00
Type tannin								
<i>Condensed</i>	9 (17)	-0.098 (0.432)	-0.342; 0.146	6.10	10 (16)	0.011 (0.938)	-0.279; 0.302	24.4
<i>Hydrolyzed</i>	2 (2)	-0.492 (0.210)	-1.031; 0.227	0.00	-	-	-	-
<i>Blend</i>	4 (11)	-0.634 (0.087)	-1.359; 0.092	80.0	2 (6)	-1.458 (0.023)	-2.717; -0.199	0.00
Total concentration tannin (g/kg DM)								
<100	2 (4)	-0.234 (0.435)	-0.751; 0.323	0.00	3 (3)	-0.551 (0.171)	-1.341; 0.238	40.8
101 – 200	3 (9)	0.043 (0.798)	-0.283; 0.368	0.00	2 (3)	0.154 (0.712)	-0.666; 0.975	77.5
>500	4 (7)	-0.102 (0.645)	-0.536; 0.332	0.00	2 (3)	-0.132 (0.693)	-0.787; 0.523	0.00
<i>Not reported</i>	6 (13)	-0.539 (0.085)	-1.154; 0.075	78.5	5 (14)	-0.600 (0.098)	-1.312; 0.112	80.3
Dose tannin (g/kg DM)								
<10	5 (8)	-0.411 (0.210)	-1.054; 0.231	71.3	5 (8)	-0.347 (0.283)	-0.981; 0.287	66.2
11 – 100	12 (23)	-0.172 (0.309)	-0.503; 0.159	49.5	7 (10)	-0.531 (0.128)	-1.214; 0.153	82.4
101 - 200	-	-	-	-	2 (2)	0.202 (0.636)	-0.636; 1.041	0.00
201 – 300	2 (2)	0.263 (0.492)	-0.486; 1.011	0.00	2 (2)	0.241 (0.530)	-0.511; 0.993	0.00

265 <sup>a</sup>Expressed in kg/d; <sup>b</sup>95% confidence interval.  $P=0.05$  and tendency ( $0.05 \leq P < 0.1$ ).

266 The global meta-analysis (with tannin versus without tannin) tended to significantly affect  
267 MY ( $P = 0.089$ ;  $I^2 = 71.6\%$ ; Table 2). In the analysis of the subgroups, the MY increased with  
268 the inclusion of blend in the dairy cattle diet ( $n = 6$  trials; MD = -1.458; 95% CI -2.717, -0.199;  
269  $P = 0.023$ ); however, when evaluating the variability between studies, heterogeneity was low  
270 ( $I^2 = 0\%$ ).

271 When assessing the subgroups of types of tannins within the extract source, it was found that  
272 MY was higher ( $P = 0.023$ ) in the presence of a tannin blend ( $n = 6$  trials; MD = -1.458; 95%  
273 CI -2.717, -0.199), with high heterogeneity ( $I^2 = 89.4\%$ ). On the other hand, when natural tannin  
274 was CT, the heterogeneity was null ( $I^2 = 0\%$ ).

275

#### 276 *Meta-regression analysis*

##### 277 *Beef cattle – DMI and ADG*

278 Five exploratory variables showed an association with the DMI of beef cattle. However,  
279 only the country, diet protein levels and tannin type showed were association with results of  
280 interest. Studies conducted in Asia significantly altered DMI ( $n = 33$  trials), naturally in this  
281 continent there is a decrease in DMI at 1.01 kg/d in relation to North America, which explained  
282 100% of the total variation (residual  $I^2 = 100\%$ ). Also, diet protein level may account for  
283 83.43% of the total variation of the studies, when protein levels were added to the diet above  
284 200 g/kg DM, the DMI decreased to 1.22 kg/d in relation to diets with protein levels between  
285 0-100 g/kg DM. Cattle that received tannin naturally showed a drop in intake at 1.42 kg/d  
286 compared to those that received it in extract (residual  $I^2 = 34.37\%$ ).

287 Seven variables expressed a relationship with ADG, and the amount of NDF and protein  
288 in the diet was significant ( $P = 0.029$  and  $P = 0.043$ , respectively). However, none of them  
289 explained the variation between studies that used univariable meta-regression ( $n = 21$  trials).

290

291 *Dairy cattle – DMI and MY*

292 For DMI of dairy cattle, in global meta-analysis, the amount of NDF accounted for 30.86%  
293 of the total variation between studies. As the NDF of the diet increased, there was a reduction  
294 of 0.150 kg/d at DMI with the inclusion of tannins ( $P = 0.022$ ).

295 Five variables explained the heterogeneity between the studies and the outcome of MY. The  
296 global meta-analysis showed that the follow-up period changed the MY ( $n = 23$  trials;  $P =$   
297  $0.036$ ). The increase of one unit in the follow-up period, increased the predicted value of MY  
298 to 0.016 kg/d with 35.35% of the total variation between studies explained. Studies in Asia  
299 explained 57.72% of the variation between studies; where MY was reduced to 1.49 kg/d in  
300 relation to North America ( $n = 23$  trials;  $P = 0.008$ ). The amount of forage in the diets also  
301 influenced the variation between the studies ( $n = 19$  trials). It was observed that studies with  
302 forage levels between 41-60% DM increased MY to 2.02 kg/d in relation to diets that included  
303 between 20-40% of forage (residual  $I^2 = 55.91\%$ ). In addition, studies with more than 80% DM  
304 of forage in dairy cattle diets increased MY to 2.09 kg/d in relation to diets with forage levels  
305 between 21-40% DM (residual  $I^2 = 55.91\%$ ). There is a drop in MY to 1.22 kg/d with the tannin  
306 blend compared to tannin CT ( $P = 0.028$ ; residual  $I^2 = 11.75\%$ ).

307

308 *Assessment of publication bias and risk of bias in individual study*

309 For DMI *beef*, the funnel plot did not indicate bias. The Egger's and Begg's tests were  
310 significant ( $P = 0.955$ ;  $P = 0.914$ , respectively), with the inclusion of six studies by using the  
311 "trim and fill" test, however, after the inclusion of these studies, the measure of effect did not  
312 change in the interpretation.

313 Asymmetry was evident in the funnel plot of DMI of dairy cattle. There was no effect on  
314 Egger's test ( $P = 0.780$ ) and Begg's test ( $P = 0.374$ ), but the "trim and fill" test added 12 new  
315 studies.

316 A funnel plot for ADG asymmetry was visible. Egger's and Begg's tests were significant ( $P$   
317 = 0.022 and  $P = 0.002$ , respectively), but the "trim and fill" test did not include new studies.

318

### 319 *Cumulative MA and sensitivity analysis*

320 The random effects of the cumulative MA from the DMI-beef, ADG, DMI-dairy, and MY  
321 studies were not significant.

322 In the sensitivity analysis, the removal of some studies changed the MD of DMI in beef and  
323 dairy cattle, ADG (beef cattle), and MY (dairy cattle; Appendix D).

324

## 325 **Discussion**

326 The great variability in types and sources of tannins, as well as animal diets are factors that  
327 may affect the action of tannins and, consequently, the performance of beef and dairy cattle. In  
328 addition, the meta-regression showed that there is an association between tannin type and type  
329 of diet, since these additives originate from an extracted source or natural tannin or even, due  
330 to differences in tannin types (CT, HT, or blend). However, the effects of tannins on animal  
331 production must be carefully analyzed, since their impact can be due to the ingredients of the  
332 diet, on the interactions between host tissues and the microbiome, or the effects of nutrient and  
333 parasitism needs of the animal (Patra *et al.* 2012; Mueller-Harvey *et al.* 2019).

334

### 335 *Beef cattle – DMI and ADG*

336 Traditionally, tannins are anti-nutritional factors that can affect the digestibility of nutrients  
337 and reduce feed intake. Research conducted by Junior *et al.* (2017) using an extract rich in  
338 *Acacia mearnsii* (100 g per animal per day or about 0.6% of DM) also showed no effect of  
339 tannin type on intake. As previously observed for DMI, the regulation of intake, when including  
340 tannins, seems to have little effect on cattle (Méndez-Ortiz *et al.* 2018).

341 Our results did not found that tannin supplementation positively affected ADG. These results  
342 were confirmed by eight studies included in the MA for beef cattle, which found no reduction  
343 in ADG when consuming tannins. The study conducted by Min (2018), who analyzed a  
344 compilation of data on the inclusion of 3 to 4% of plants with tannins, observed a low effect on  
345 ADG for sheep and goats. In addition, Martello *et al.* (2020) did not observe an effect on weight  
346 gain of grazing animals with the inclusion of 0.23% DM of a tannin blend with urea. On the  
347 other hand, Rivera-Méndez *et al.* (2017), who supplemented steers in a feedlot with tannins,  
348 observed an increase in ADG by 6.5%, with a tendency for ADG to increase with the level of  
349 supplementation. There seems to be a singular relationship between the inclusion of tannins and  
350 the type of diet, especially with the forage/concentrate, amount of energy and protein, as well  
351 as the level of inclusion of tannin (Mueller-Harvey *et al.* 2019).

352 The increase in performance with the inclusion of tannins, especially in ADG, , occurs due  
353 to the reduction of the microbial degradation of dietary protein in the rumen. Therefore, there  
354 is an increase in the availability and absorption of amino acids in the small intestine (Ramírez-  
355 Restrepo *et al.* 2004). Accordingly, diets with high protein, mainly in degradable form in the  
356 rumen, can adversely affect performance, because there is an additional energy cost to  
357 metabolize the excess N for excretion in feces and urine (Dijkstra *et al.* 2013). Although N  
358 excreted in the feces increases with the inclusion of some tannins, this process is still unclear,  
359 despite it might be explained by the non-formation of tannin-protein complexes that reach the  
360 abomasum, or when dissociation occurs, during which free tannins can bind to dietary and  
361 endogenous substances in the intestine (Makkar 2003).

362 It is well established that diets containing low CP reduce the growth pool and microbial  
363 fermentation rate (Hungate, 1966). The inclusion of tannins in low-quality diets can reduce the  
364 digestibility of DM and inhibit the activity of ruminal bacteria (Nelson *et al.* 1997). This  
365 probably leads to greater effects on ruminal filling, due to impaired fermentation and reduced

366 degradation and passage rate, which can motivate lower voluntary consumption of DM  
367 (Decruyenaere *et al.* 2009).

368 It is known that DM digestibility decreases as forage NDF increases (Van Soest 1965),  
369 tannins act on fibrolytic bacteria and can decrease fiber degradation (Carulla *et al.* 2005).  
370 However, the increase in NDF limits energy intake, which may inhibit the energy flow to the  
371 small intestine (Hutahnen *et al.* 2016), with negative effects on performance, particularly  
372 weight gain. The proportion of NDF in the feed also affect the digestibility of organic matter  
373 and total intake (Harper and McNeill 2015).

374

#### 375 *Dairy cattle – DMI and MY*

376 For DMI in dairy cattle, no reduction was observed using the MA. Grainger *et al.* (2009)  
377 and Dschaak *et al.* (2013) found a reduction in DMI using CT from *Acacia mearnsii* (dose 163-  
378 266 g/kg) and *Quebracho* (dose 30 g/kg), respectively, which is approximately 3-5% DM. This  
379 reduction in DMI for dairy cattle seems to be associated with the addition of higher doses and  
380 the source of CT extracts (*Acacia* or *Quebracho*). The lactation stage of the cows in the studies  
381 mentioned above was between 30 and 60 days, although the lactation phase was not significant  
382 in the meta-regression, this variable may have influenced the observations of tannin potential  
383 for lactating cows. It is known that during the first weeks of lactation, dairy cows  
384 physiologically reduce DMI, and with the drop in nutrient input, a negative energy balance is  
385 established (Moore and DeVries 2020). When assessing the nutritional effects of tannins, the  
386 physiological state, dietary conditions, and high doses of tannins can lead to intake reduction  
387 (Mueller-Harvey *et al.* 2019).

388 Frequently, intake variations are confused and cause inconsistent results. Therefore, tannin  
389 inclusion in the cattle diet should consider the dietary requirements of protein and energy needs  
390 (Kyriazakis 2003; Ventura-Cordero *et al.* 2018). For example, an intake reduction can lead to

391 a low rate of digestion, which can compromise the supply of nutrients to ruminal bacteria  
392 (Mueller-Harvey 2006). A decrease in DM digestibility , OM and fiber can inhibit bacterial  
393 activity or inhibit tannin complexation with dietary components, such as carbohydrates (CHO)  
394 and the cell wall (Herremans *et al.* 2020).

395 Therefore, assessing benefits based on performance alone can be complicated, as the  
396 overall quality of the diet can determine the extent of tannin effect (Muller-Harvey *et al.* 2019).  
397 Our results corroborate with the Méndez-Ortiz *et al.* (2018) that found in an MA with sheep  
398 (CT inclusion, with or without addition of polyethylene glycol, PEG), 16 of the included  
399 manuscripts did not show any evidence to support negative effects of tannins on DMI. The  
400 exception being specific situations, such as high doses of tannins, atypical physiological  
401 conditions, and source of tannins (Dschaak *et al.* 2011). In this study, publications that included  
402 PEG were not considered, to explore only the effect of tannins on cattle performance .

403 As we observed, diets containing tannins were most affected when an extract and a tannin  
404 blend were added simultaneously affecting the DMI for dairy cattle. This result could be  
405 explained by the associative and complementary effects of CT and HT, which are variable; for  
406 example, CT are flavan-3-ol polymers (*e.g.*, catechin) or flavan-3,4-diol (*e.g.*,  
407 proanthocyanidin) and HT are complex polyphenols (gallic acid and/or ellagic acid), with an  
408 ester attached to a hexose molecule (McMahon *et al.* 1999). In the rumen, tannins are rapidly  
409 hydrolyzed to gallic acid, which has considerable potential for reducing the emission of  
410 methane and ammonia (Abogaye *et al.* 2019). These chemical characteristics are peculiar to  
411 each type of tannin and influence the different responses in the rumen. For instance, for CT,  
412 five mechanisms of action have been described involving proteins (amino acids), wherein  
413 reduction of proteolysis, relationship with frothy bloat, and anthelmintic action have been  
414 considered (Tedeschi *et al.* 2014).

415 This study considered the total concentration of tannins in the plant or in extracts as an  
416 explanatory variable. In this sense, it is understood that the concentration of tannins is directly  
417 related to the molecular weight, the higher the molecular weight, the greater the effects of  
418 tannin supplementation on animal performance. Tannins are known for high molecular weights,  
419 greater than 500 (MW>500) and distinct phenolic groups (Hagerman *et al.* 1998) that may be  
420 an important factor in tannins bioactivity (Bate-Smith 1973; Peleg *et al.* 1999). Therefore, there  
421 is no indication that the higher molecular weight tannins may decrease DMI or diet digestibility  
422 (Aboagye and Beauchemin 2019). Furthermore, with an increase in molecular weight,  
423 bioactivity may also increase, since bioactivity can develop antioxidant and antibacterial  
424 functions, even if present in small amounts in the extract or plant, when in contact with ruminal  
425 microorganisms (Hristov *et al.* 2003).

426 In contrast, other studies have reported that an increase in molecular weight did not result  
427 in greater bioactivity of tannins (Huang *et al.* 2010; Tharayil *et al.* 2011). Moreover, molecular  
428 weight is often overlooked when testing tannins in cattle diets (Hagerman *et al.* 1998), probably  
429 because of the time and cost it would take on the laboratory protocol. Surprisingly, none of the  
430 included studies in this MA reported the molecular weight of the tannin source used. The  
431 molecular weight could be decisive in defining the factors of the tannin action potential in the  
432 DMI because it is causally related to the source and the dose used in the diet. Mueller-Harvey  
433 *et al.* (2019) also highlighted the importance of the molecular structures of tannins, as well as  
434 their concentration, and the composition in the diet; so, the structural characteristics of tannins  
435 cannot be underestimated.

436 Including tannins in the dairy cattle diet seems to produce greater effects compared to their  
437 performance in beef cattle in terms of ADG outcome. Adding a tannin blend in an extract  
438 increased the MY (Table 4). The supply of tannins in extract, concentrate, demonstrated greater  
439 efficiency compared to the supply of whole plant. In addition to DMI in dairy cattle, the MY



440 that included a blend source extract was superior for animals that consumed tannins. The  
441 addition of extracts rich in tannin blend (CT + HT) can cause beneficial (low concentration and  
442 doses) and adverse effects in ruminants (high concentration and doses) (Makkar 2003). In other  
443 studies with several sources of tannins, the observations regarding MY were different from  
444 those we found. The supplementation of diets with condensed tannin extracts from *Quebracho*  
445 trees (Benchaar *et al.* 2008; Aguerre *et al.* 2016), *Acacia mearnsii* (Griffiths *et al.* 2013), or  
446 tamarind seed husk (Bhatta *et al.* 2000), at similar doses had no effect on MY or composition.

447 As demonstrated by Aerts *et al.* (1999), moderate blend doses (2 to 4% of DM) in diets for  
448 sheep increase wool production, body weight, and ovulation rate, even without increasing feed  
449 intake, which agrees with our findings. In contrast, the action of HT in high concentrations can  
450 reduce animal performance, through the negative effect on DMI, caused by palatability and  
451 digestion (Broderick *et al.* 1991). Regarding these results, Benchaar *et al.* (2008) and Aguerre  
452 *et al.* (2020) concluded that chestnut and/or *Quebracho* tannins do not affect the DMI in dairy  
453 cattle or MY of lactating cows when fed 0.45% of DM. In the same way, Sliwinski *et al.* (2004)  
454 found no effect on feed intake and MY with chestnut at 0.49% DM of the diet. However,  
455 Herremans *et al.* (2020) suggested that even on low-protein diets, milk production would not  
456 be substantially increased by tannins.

457 The possibility of including tannins extracts at low doses seems to make the effect stronger,  
458 compared to the supply of plants that contain tannins. It is possible that the extracts act isolated,  
459 without competing with other plant components, ergo, it becomes potentially more effective.  
460 In addition, by including tannin extracts in the cattle diet in low and moderate doses, its  
461 astringent properties can inactivate microorganisms in the rumen, reducing feed intake  
462 (McMahon *et al.* 1999; Naumman *et al.* 2017).

463 The meta-regression for MY of dairy cattle in Asia observed a reduction in MY of 1.49  
464 kg/d with the use of tannin extracts. The most probable reasons for this reduction, compared to

465 other continents, are the same as mentioned in the section above for beef cattle. Diets with more  
466 than 40% of forage favored treatment with tannins. Herremans *et al.* (2020) identified that the  
467 MY increase was greater when cows were fed with forage, preserved (hay or silage) and fresh  
468 forage (Broderick *et al.* 2017). In addition, all studies included reported meeting the protein and  
469 energy requirements for cows. It is evident that dairy cattle diets are more challenging and  
470 require more precise and refined adjustments in their formulation, considering the complex  
471 interrelationships between protein and dietary energy, as well as the amount of protein that the  
472 cow will actually metabolize (Broderick 2003). Griffiths *et al.* (2013) found that tannins,  
473 especially CT, in low doses (about 0.6% DM) associated with high-quality pasture do not have  
474 negative effects on MY, and there seems to be a greater benefit from the use of tannins when  
475 there are higher proportions of high-quality forage.

476 The follow-up (meta-regression) of the studies significantly influenced MY; for example,  
477 by increasing the experimental day, MY increased by 0.016 kg/d. Aguerre *et al.* (2016) argued  
478 that, in general, short-term studies show little effect of adding a tannin blend (*Quebracho* and  
479 chestnut) on MY. Duval *et al.* (2016) noted that a good starting point for potential strategy,  
480 with the long-term inclusion of tannins in the diets to improve MY and other beneficial effects  
481 for the animal and the environmental footprint would be 90 days of exposure to the tannins.  
482 Most likely, in the short-term studies, the effect was found more due to diet quality than to the  
483 action of tannins modulating the rumen environment in favor of MY.

484 Supplementation with tannins has been extensively tested in the literature (Aguerre *et al.*  
485 2006; Beauchemin *et al.* 2016; Mezzomo *et al.* 2011), but there still seems to be uncertainty  
486 regarding its real potential for cattle performance. The effects of tannins, especially CT, on  
487 retention and efficiency are dynamic and complex (Norris *et al.* 2020). However, it is  
488 understood that the lack of an analysis to understand the interactions between the tannin  
489 substrate can interfere with the efficiency of its implementing in ruminant production systems

490 (Norris *et al.* 2020). Thus, experimentation with a larger number of animals, although  
491 economically unfeasible, may produce greater discoveries, aligning tannin type with source and  
492 substrate used in the diets.

493 Our study had some limitations because, as *a priori* defined, data extracted was limited to  
494 published literature. Unfortunately, information about secondary data had to be transformed  
495 into results of interest, which may have caused some study to be disregarded. Consequently,  
496 the number of studies and trials would have increased if primary data were available. Moreover,  
497 data were collected from studies that used only tannins, that is, studies that included other  
498 additives associated with tannins, were not considered to avoid biased findings. In addition, the  
499 categorization of doses may have been a weak point, however, this fact was necessary due to the  
500 variability of doses that the studies presented.

501 The results of this MA indicate that the inclusion of tannins does not play a significant role  
502 in the performance of beef and dairy cattle (increasing weight gain, milk production, and  
503 regulating DMI). This may be related, mainly, to the structure of the tannin included in the diet.  
504 Therefore, the differences in performance may be a result of the different chemical  
505 compositions of the plants and the variability of the resulting diets, and not just the tannin  
506 content in the respective diets. For future research, given the main objective, we strongly  
507 suggest to better characterization of tannins included in the diet, because the benefits to animal  
508 performance appear to be indirect and complex.

509

## 510 **Conclusions**

511 The present study demonstrated that the inclusion of tannins in diets of beef and dairy cattle  
512 did not have negative effects on DMI, ADG, and MY, but there were tendencies of reduction  
513 in intake with high doses and total concentration of tannins. It was found that blend extracts  
514 have greater effects on modifying DMI and MY in dairy cattle.

515 The main effects that explain changes in cattle performance are related to the interaction  
516 of tannins with the diet composition, especially protein and energy. Although we found a  
517 potential for the use of tannins in cattle diets, their structure should be better characterized in  
518 plants and in extracts in future studies, to enable a better understanding of the effects of dietary  
519 components and tannins.

520

### 521 **Declarations of interest**

522 The authors declare that there are no conflicts of interest.

523

### 524 **Acknowledgements**

525 The authors are grateful for the financial support Higher Education Personnel Improvement  
526 Coordination (CAPES).

527

### 528 **References**

529 Aboagye IA and Beauchemin KA (2019). Potential of molecular weight and structure of tannins

530 to reduce methane emissions from ruminants: A Review. *Animals* 9, (11) 856.

531 <https://doi.org/10.3390/ani9110856>

532 Aboagye IA, Oba M, Castillo AR, Koenig KM, Iwaasa AD, Beauchemin KA (2018). Effects

533 of hydrolyzable tannin with or without condensed tannin on methane emissions, nitrogen

534 use, and performance of beef cattle fed a high-forage diet. *Journal of Animal Science* 96,

535 (12) 5276-5286. <https://doi.org/10.1093/jas/sky352>

536 Aerts RJ, Barry TN and McNabb WC (1999). Polyphenols and agriculture:beneficial effects of

537 proanthocyanidins in forages. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 75, 1–

538 12.[https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(99\)00062-6](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(99)00062-6)

- 539 Aguerre MJ, Duval B, Powell JM, Vadas PA, Wattiaux MA (2020). Effects of feeding a  
540 quebracho–chestnut tannin extract on lactating cow performance and nitrogen utilization  
541 efficiency. *Journal of Dairy Science* 103, (3) 2264-2271. [https://doi.org/10.3168/jds.2019-](https://doi.org/10.3168/jds.2019-17442)  
542 [17442](https://doi.org/10.3168/jds.2019-17442)
- 543 Aguerre MJ, Capozzolo MC, Lencioni P, Cabral C, Wattiaux MA (2016). Effect of quebracho-  
544 chestnut tannin extracts at 2 dietary crude protein levels on performance, rumen  
545 fermentation, and nitrogen partitioning in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 99, (6)  
546 4476-4486. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10745>
- 547 Alves TP, Dall-Orsoletta AC and Ribeiro-Filho HMN (2017). The effects of supplementing  
548 *Acacia mearnsii* tannin extract on dairy cow dry matter intake, milk production, and  
549 methane emission in a tropical pasture. *Tropical Animal Health and Production* 49, (8)  
550 1663-1668. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1374-9>
- 551 Ávila SC, Kozloski GV, Orlandi T, Mezzomo MP, Stefanello S (2015). Impact of a tannin  
552 extract on digestibility, ruminal fermentation and duodenal flow of amino acids in steers  
553 fed maize silage and concentrate containing soybean meal or canola meal as protein source.  
554 *The Journal of Agricultural Science* 153, (5) 943-953.  
555 <https://doi.org/10.1017/S0021859615000064>
- 556 Azuhwi BN, Hertzberg H, Arrigo Y, Gutzwiller A, Hess HD, Mueller-Harvey I, ... Dohme-  
557 Meier F (2013). Investigation of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) cultivar differences on  
558 nitrogen balance and fecal egg count in artificially infected lambs. *Journal of Animal*  
559 *Science* 91, 2343–2354. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5351>
- 560 Baah J, Ivan M, Hristov AN, Koenig KM, Rode LM, Mcallister TA (2007). Effects of potential  
561 dietary antiprotozoal supplements on rumen fermentation and digestibility in heifers.  
562 *Animal Feed Science and Technology* 137, 126–137. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5351>
- 563 Bate-Smith EC (1973). Haemanalysis of tannins: the concept of relative astringency.  
564 *Phytochemistry* 12, 907–912. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(73\)80701-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(73)80701-0)

- 565 Beauchemin KA, McGinn SM, Martinez TF and McAllister TA (2007). Use of condensed  
566 tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. *Journal of*  
567 *Animal Science* 85, 1990–1996. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-686>
- 568 Benchaar C, McAllister TA and Chouinard PY (2008). Digestion, ruminal fermentation, ciliate  
569 protozoal populations, and milk production from dairy cows fed cinnamaldehyde,  
570 quebracho condensed tannin, or *Yucca schidigera* saponin extract. *Journal. Dairy Science*.  
571 91:4765–4777. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1338>.
- 572 Bhatta R, Krishnamoorthy U and Mohammed F (2000). Effect of feeding tamarind  
573 (*Tamarindus indica*) seed husk as a source of tannin on dry matter intake, digestibility of  
574 nutrients and production performance of crossbred dairy cows in mid-lactation. *Animal*  
575 *Feed Science and Technology* 83, (1) 67-74 [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00118-2](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00118-2)
- 576 Borenstein M, Hedges LV, Higgins JPT and Rothstein HR (2009) *Introduction to meta-*  
577 *analysis*. The Atrium, Chichester, UK. John Wiley and Sons, Ltd.
- 578 Bouchard K, Wittenberg KM, Legesse G, Krause DO, Khafipour E, Buckley KE, Ominski KH  
579 (2015). Comparison of feed intake, body weight gain, enteric methane emission and  
580 relative abundance of rumen microbes in steers fed sainfoin and lucerne silages under  
581 western Canadian conditions. *Grass and Forage Science* 70, (1) 116-  
582 129. <https://doi.org/10.1111/gfs.12105>
- 583 Brinkhaus AG, Bee G, Silacci P, Kreuzer M, Dohme-Meier F (2016). Effect of exchanging  
584 *Onobrychis viciifolia* and *Lotus corniculatus* for *Medicago sativa* on ruminal fermentation  
585 and nitrogen turnover in dairy cows. *Journal of dairy science* 99, (6) 4384-  
586 4397. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9911>
- 587 Broderick GA, Wallace RJ and Ørskov ER (1991). Control of rate and extent of protein  
588 degradation. In: 'Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants' (pp. 541-  
589 592). Academic Press.

- 590 Broderick GA (2003). Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of  
591 lactating dairy cows. *Journal of dairy science* 86, (4) 1370-  
592 1381.[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73721-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73721-7)
- 593 Broderick GA, Grabber JH, Muck RE, Hymes-Fecht UC (2017). Replacing alfalfa silage with  
594 tannin-containing birdsfoot trefoil silage in total mixed rations for lactating dairy cows.  
595 *Journal of Dairy Science* 100, (5) 3548-3562.
- 596 Canozzi MEA, Mederos A, Manteca X, Turner S, McManus C, Zago D and Barcellos JOJ  
597 (2017). A meta-analysis of cortisol concentration, vocalization, and average daily gain  
598 associated with castration in beef cattle. *Research in Veterinary Science* 114, 430-  
599 443.<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.07.014>
- 600 Carulla JE, Kreuzer M, Machmuller A, Hess HD (2005). Supplementation of *Acacia mearnsii*  
601 tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Australian*  
602 *Journal of Agricultural Research*, 56, 961–970.
- 603 Cherif, C, Hassanat F, Claveau S, Girard J, Gervais R, Benchaar C (2018). Faba bean (*Vicia*  
604 faba) inclusion in dairy cow diets: Effect on nutrient digestion, rumen fermentation,  
605 nitrogen utilization, methane production, and milk performance. *Journal of Dairy*  
606 *Science* 101, (10) 8916-8928.<https://doi.org/10.3168/jds.2018-14890>
- 607 Christensen RG, Yang SY, Eun JS, Young AJ, Hall JO, MacAdam JW (2015). Effects of  
608 feeding birdsfoot trefoil hay on neutral detergent fiber digestion, nitrogen utilization  
609 efficiency, and lactational performance by dairy cows. *Journal of Dairy Science* 98, (11)  
610 7982-7992.<https://doi.org/10.3168/jds.2015-9348>
- 611 Chung YH, Mc Geough EJ, Acharya S, McAllister TA, McGinn SM, Harstad OM, Beauchemin  
612 KA (2013). Enteric methane emission, diet digestibility, and nitrogen excretion from beef  
613 heifers fed sainfoin or alfalfa. *Journal of Animal Science* 91, (10) 4861-  
614 4874.<https://doi.org/10.2527/jas.2013-6498>

- 615 Cieslak A, Zmora P, Pers-Kamczyc E, Szumacher-Strabel M (2012). Effects of tannins source  
616 (*Vaccinium vitis idaea* L.) on rumen microbial fermentation *in vivo*. *Animal Feed Science*  
617 *and Technology* 176, (1-4) 102-106. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2012.07.012>
- 618 De Boer AJ (1982). Livestock development: the Asian experience. In: 'Conference on  
619 Livestock in Asia', Singapore, 2-4 Mar 1982. IDRC.
- 620 Decruyenaere V, Buldgen A and Stilmant D, (2009). Factors affecting intake by grazing  
621 ruminants and related quantification methods: a review. *Biotechnology Agronomy Society*  
622 *and Environment* 13, 559–573. <https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=4757>
- 623 DerSimonian R and Laird N (1986) Meta-analysis in clinical trials. *Controlled Clinical Trials*  
624 7, 177-188. [https://doi.org/10.1016/0197-2456\(86\)90046-2](https://doi.org/10.1016/0197-2456(86)90046-2)
- 625 Dey A, Dutta N, Sharma K, Pattanaik AK (2009). Response of dairy cows to dietary  
626 supplementation of condensed tannins through *Ficus infectoria* leaves. *Indian Journal of*  
627 *Animal Sciences* 79, (1) 58.
- 628 Dey A, and De PS (2014). Influence of condensed tannins from *Ficus bengalensis* leaves on  
629 feed utilization, milk production and antioxidant status of crossbred cows. *Asian-*  
630 *Australasian Journal of Animal Sciences* 27, (3) 342. <https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13295>
- 631 Dschaak CM, Williams CM, Holt MS, Eun JS, Young AJ, Min BR (2011). Effects of  
632 supplementing condensed tannin extract on intake, digestion, ruminal fermentation, and  
633 milk production of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 94, (5) 2508-  
634 2519. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3818>
- 635 Duval, B. D., Aguerre, M., Wattiaux, M., Vadas, P. A. & Powell, J. M. (2016). Potential for  
636 reducing on-farm greenhouse gas and ammonia emissions from dairy cows with prolonged  
637 dietary tannin additions. *Water, Air, & Soil Pollution*, 227(9), 329.  
638 <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2997-6>



- 639 Duval S and Tweedie R (2000) Trim and fill: a simple funnel-plot-based method of testing and  
640 adjusting for publication bias in meta-analysis. *Biometrics* 56, 455–463.  
641 <https://doi.org/10.1111/j.0006-341x.2000.00455x>
- 642 Ebert PJ, Bailey EA, Shreck AL, Jennings JS, Cole NA (2017). Effect of condensed tannin  
643 extract supplementation on growth performance, nitrogen balance, gas emissions, and  
644 energetic losses of beef steers. *Journal of Animal Science* 95, (3) 1345-  
645 1355.<https://doi.org/10.2527/jas.2016.0341>
- 646 Egger M, Smith GD and Altman DG (2001) *Systematic reviews in health care*. London, UK:  
647 MBJ Publishing Group.
- 648 Forbes J (2007). Voluntary food intake and diet selection in farm animals, 2<sup>a</sup>ed, *Voluntary Food*  
649 *Intake and Diet Selection in Farm Animals*. CAB International, London, UK.
- 650 Frutos P, Hervás G, Ramos G, Giráldez FJ & Mantecón AR (2002). Condensed tannin content  
651 of several shrub species from amountain area in northern Spain, and its relationship to  
652 various indicators of nutritive value. *Animal Feed Science and Technology* 92, 215-  
653 226.[https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00323-6](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00323-6)
- 654 Grainger C, Clarke T, Auldish MJ, Beauchemin KA, McGinn SM, Waghorn GC, Eckard RJ  
655 (2009). Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions  
656 and nitrogen excretion from grazing dairy cows. *Canadian Journal Animal Science* 89,  
657 241–251.<https://doi.org/10.4141/CJAS08110>
- 658 Granum G, Wanapat M, Pakdee P, Wachirapakorn C, Toburan W (2007). A comparative study  
659 on the effect of cassava hay supplementation in swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*) and  
660 cattle (*Bos indicus*). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 20, (9) 1389-  
661 1396.<https://doi.org/10.5713/ajas.2007.1389>

- 662 Griffiths WM , Clark CEF, Clark DA, Waghorn GC. Supplementing lactating dairy cows fed  
663 high-quality pasture with black wattle (*Acacia mearnsii*) tannin. *Animal*, 7 (2013), pp. 1789-  
664 1795 23899456
- 665 Guimarães-Beelen PM, Berchielli TT, Beelen R, Medeiros AN (2006). Influence of condensed  
666 tannins from Brazilian semiarid legumes on ruminal degradability, microbial colonization  
667 and ruminal enzymatic activity in Saanen goats. *Small Ruminant Research* 60, 35-  
668 44.<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.01.007>
- 669 Hagerman AE, Riedl KM, Jones GA, Sovik KN, Ritchard NT, Hartzfeld PW, Riechel TL  
670 (1998). High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants.  
671 *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, (5) 1887–  
672 1892.<https://doi:10.1021/jf970975b>
- 673 Harper K and McNeill (2015). The Role iNDF in the regulation of feed intake and the  
674 importance of its assessment in subtropical ruminant systems (the role of iNDF in the  
675 regulation of forage intake). *Agriculture*, 5 778–790. doi:10.3390/agriculture5030778.  
676 Available from: <http://www.mdpi.com/2077-0472/5/3/778/>
- 677 Henke A, Dickhoefer U, Westreicher-Kristen E, Knappstein K, Molkentin J, Hasler M,  
678 Susenbeth A (2017). Effect of dietary Quebracho tannin extract on feed intake,  
679 digestibility, excretion of urinary purine derivatives and milk production in dairy cows.  
680 *Archives of animal nutrition* 71, (1) 37-53. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2016.1250541>
- 681 Hernández-Orduño G, Torres-Acosta JFJ, Sandoval-Castro CA, Capetillo-Leal CM, Aguilar-  
682 Caballero AJ, Alonso-Díaz MA (2015). A tannin-blocking agent does not modify the  
683 preference of sheep towards tannin-containing plants. *Physiology Behavior* 145, 106–111.  
684 <https://doi:10.1016/j.physbeh.2015.04.006>
- 685 Herremans S, Vanwindekens F, Decruyenaere V, Beckers Y, Froidmont E. (2020). Effect of  
686 dietary tannins on milk yield and composition, nitrogen partitioning and nitrogen use

- 687 efficiency of lactating dairy cows: A meta-analysis. *Journal of Animal Physiology and*  
688 *Animal Nutrition*. 0;00:1–10. <https://doi.org/10.1111/jpn.13341>
- 689 Higgins JPT and Green S (2011) *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*  
690 Version 5.1.0 [updated March 2011]. The Cochrane Collaboration. [http://www.cochrane-](http://www.cochrane-handbook.org)  
691 [handbook.org](http://www.cochrane-handbook.org) (accessed in February, 10, 2020).
- 692 Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ and Altman DG (2003) Measuring inconsistency in  
693 meta-analysis. *BMJ: British Medical Journal* 327, 557-560.  
694 <https://doi.org/10.1136/bmj.327.7414.557>
- 695 Hoste H, Jackson F, Athanasiadou S, Thamsborg SM, Hoskin SO (2006). The effects of tannin-  
696 rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends in Parasitology* 22, 253–261.  
697 <https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.04.004>
- 698 Hristov AN, Ivan M, Neill L, McAllister TA (2003). Evaluation of several potential bioactive  
699 agents for reducing protozoal activity *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology* 105,  
700 (1-4), 163-184.[https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(03\)00060-9](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(03)00060-9)
- 701 Huang XD, Liang JB, Tan HY, Yahya R, Khamsekhiew B, Ho, YW (2010). Molecular weight  
702 and protein binding affinity of Leucaena condensed tannins and their effects on *in vitro*  
703 fermentation parameters. *Animal Feed Science and Technology* 159, 81–87.
- 704 Hung XD, Liu X, Xhao G, Hu T, Wang Y (2018). Potential and challenges of tannins as an  
705 alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. *Animal nutrition*, 4, 137-150.
- 706 Huhtanen P, Detmann E and Krizsan SJ (2016). Prediction of rumen fiber pool in cattle from  
707 dietary, fecal, and animal variables. *Journal of Dairy Science* 99, (7) 5345-  
708 5357.<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.05.008>
- 709 Hungate RE (1966). *The rumen and its microbes*. Academic Press, New York.
- 710 Jayanegara A, Goel G, Makkar HPS, Becker K (2015). Divergence between purified  
711 hydrolysable and condensed tannin effects on methane emission, rumen fermentation and

- 712 microbial population *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology* 209, 60–68.  
713 <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.08.002>
- 714 Jami E, Shabtay A, Nikbachat M, Yosef E, Miron J, Mizrahi, I (2012). Effects of adding a  
715 concentrated pomegranate-residue extract to the ration of lactating cows on *in vivo*  
716 digestibility and profile of rumen bacterial population. *Journal of Dairy Science* 95, (10)  
717 5996-6005. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5537>
- 718 Jolazadeh AR, Dehghan-Banadaky M and Rezayazdi K (2015). Effects of soybean meal treated  
719 with tannins extracted from pistachio hulls on performance, ruminal fermentation, blood  
720 metabolites and nutrient digestion of Holstein bulls. *Animal Feed Science and Technology*  
721 203, 33-40. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.02.005>
- 722 Jouany JP and Morgavi DP (2007). Use of ‘natural’ products as alternatives to antibiotic feed  
723 additives in ruminant production. *Animal* 1:10, p. 1443–  
724 1466. <https://doi.org/10.1017/S1751731107000742>
- 725 Kang S, Wanapat M and Cherdthorng A (2014). Effect of banana flower powder  
726 supplementation as a rumen buffer on rumen fermentation efficiency and nutrient  
727 digestibility in dairy steers fed a high-concentrate diet. *Animal Feed Science and*  
728 *Technology* 196, 32-41. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.003>
- 729 Koenig KM, Beauchemin KA and McGinn SM (2018). Feeding condensed tannins to mitigate  
730 ammonia emissions from beef feedlot cattle fed high-protein finishing diets containing  
731 distillers grains. *Journal of Animal Science* 96 (10), 4414-  
732 4430. <https://doi.org/10.1093/jas/sky274>
- 733 Kondo M, Hirano Y, Ikai N, Kita K, Jayanegara A, Yokota H. (2014). Assessment of anti-  
734 nutritive activity of tannins in tea byproducts based on *in vitro* rumen fermentation. *Asian-*  
735 *Australasian Journal of Animal Sciences* 27, 1571–1576.  
736 <https://doi.org/10.5713/ajas.2014.14204>

- 737 Krueger WK, Gutierrez-Bañuelos H, Carstens GE, Min BR, Pinchak WE, Gomez RR,  
738 Anderson RC, Krueger NA, Forbes TDA (2010). Effects of dietary tannin source on  
739 performance, feed efficiency, ruminal fermentation, and carcass and non-carcass traits in  
740 steers fed a high-grain diet. *Animal Feed Science and Technology* 159, 1–9.  
741 <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.05.003>
- 742 Kyriazakis I (2003). What are ruminant herbivores trying to achieve through their feeding  
743 behaviour and food intake? In: Mannetje, L., Ramirez-Aviles, L., Sandoval-Castro, C.A.,  
744 Ku-Vera, J.C. (Eds.), ‘Matching herbivore nutrition to ecosystems biodiversity:  
745 Proceedings of the 6th International Symposium on the Nutrition of Herbivores’.  
746 Universidad Autónoma de Yucatán. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,  
747 Merida, Yucatan, Mexico, pp. 153–173.
- 748 Landau S, Silanikove N, Nitsan Z, Barkai D, Baram H, Provenza FD, Perevolotsky A. (2000).  
749 Short-term changes in eating patterns explain the effects of condensed tannins on feed  
750 intake in heifers. *Applied Animal Behaviour Science* 69, 199-  
751 213.[https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(00\)00125-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(00)00125-8)
- 752 Liu HW, Zhou DW and Li K (2013). Effects of chestnut tannins on performance and  
753 antioxidative status of transition dairy cows. *Journal Dairy Science* 96, 5901–  
754 5907.<https://doi.org/10.3168/jds.2013-6904>
- 755 Loudon ASI (1991). Nutritional physiology of some Asian ruminants. In: ‘Physiological  
756 Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants’ (p. 403-425). Academic Press  
757 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-702290-1.50025-4>
- 758 Makkar HPS (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and  
759 strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small ruminant*  
760 *research* 49, (3) 241-256.[https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(03\)00142-1](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00142-1)
- 761 Martello, H. F., De Paula, N. F., Teobaldo, R. W., Zervoudakis, J. T., Fonseca, M. A., Cabral,  
762 L. S., Moraes, E. H. B. K. (2020). Interaction between tannin and urea on nitrogen

- 763 utilization by beef cattle grazing during the dry season. *Livestock Science*,  
764 103988.<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.103988>
- 765 McMahon LR, McAllister TA, Berg BP, Majak W, Acharya SN, Popp JD, Coulman BE, Wang  
766 Y, Cheng KJ (1999). A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal  
767 fermentation and bloat in grazing cattle. *Canadian Journal of Plant Science* 80, 469–  
768 485.<https://doi.org/10.4141/P99-050>
- 769 Mederos A, Waddell L, Sánchez J, Kelton D, Peregrine AS, Menzies P, Vanleeuwen J, Rajic  
770 A (2012) A systematic review-meta-analysis of primary research investigating the effect  
771 of selected alternative treatments on gastrointestinal nematodes in sheep under field  
772 conditions. *Preventive Veterinary Medicine* 104, 1-  
773 14.<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.10.012>
- 774 Méndez-Ortiz FA, Sandoval-Castro CA, Ventura-Cordero J, Sarmiento-Franco LA, Torres-  
775 Acosta JFJ (2018). Condensed tannin intake and sheep performance: a meta-analysis on  
776 voluntary intake and live weight change. *Animal feed science and technology* 245, 67-  
777 76.<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.09.001>
- 778 Mezzomo R, Paulino PVR, Detmann E, Valadares Filho SC, Paulino MF, Monnerat JPIS,  
779 Duarte MS, Silva LHP, Moura LS (2011). Influence of condensed tannin on intake,  
780 digestibility, and efficiency of protein utilization in beef steers fed high concentrate diet.  
781 *Livestock Science* 141, (1) 1-11.<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.04.004>
- 782 Moher D, Liberati A, Tetzlaff J and Altman DG (2009). Preferred reporting items for systematic  
783 reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Annals of internal medicine* 151, 264-  
784 269.
- 785 Moore SM and DeVries TJ. (2020). Effect of diet-induced negative energy balance on the  
786 feeding behavior of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 103, 7288-7301.  
787 <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17705>

- 788 Mueller-Harvey I (2006). Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health.  
789 *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86, (13) 2010-  
790 2037.<https://doi.org/10.1002/jsfa.2577>
- 791 Mueller-Harvey, I. (2006). Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and  
792 health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), 2010-2037.  
793 <https://doi.org/10.1002/jsfa.2577>
- 794 Mueller-Harvey I, Bee G, Dohme-Meier F, Hoste H, Karonen M, Kölliker R, ... Skøt L (2019).  
795 Benefits of condensed tannins in forage legumes fed to ruminants: importance of structure,  
796 concentration, and diet composition. *Crop Science* 59, (3) 861-  
797 885.<https://doi.org/10.2135/cropsci2017.06.0369>
- 798 Nelson KE, Pell AN, Doane PH, Schofield P (1997). Chemical and biological assays to evaluate  
799 bacterial inhibition by tannins. *Journal of Chemical Ecology* 23, 1175– 1194.  
800 <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000006394.06574.f4>
- 801 National Research Council (NRC) (2000). *Nutrient requirements of beef cattle: update 2000*.  
802 National Academies Press.
- 803 National Research Council (NRC). (2001). *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7th rev. ed.  
804 Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- 805 Junior FP, Cassiano ECO, Martins MF, Romero LA, Zapata DCV, Pinedo LA, ... Rodrigues  
806 PHM (2017). Effect of tannins-rich extract from *Acacia mearnsii* or monensin as feed  
807 additives on ruminal fermentation efficiency in cattle. *Livestock science* 203, 21-  
808 29.<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.06.009>
- 809 Patra AK, Min BR and Saxena J. (2012). Dietary tannins on microbial ecology of the  
810 gastrointestinal tract in ruminants. In: Patra AK, editor. 'Diet Phytochem Microbes'.  
811 Dordrecht: Springer Netherlands, p. 237–62.

- 812 Peleg H, Gacon K, Schlich P, Noble AC (1999). Bitterness and astringency of flavan-3-ol  
813 monomers, dimers and trimers. *Journal of Science and Food Agriculture* 79, 1123–  
814 1128.[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199906\)79:8<1123::AID-FA336>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199906)79:8<1123::AID-FA336>3.0.CO;2-D)
- 815 Piñeiro-Vázquez AT, Canul-Solis JR, Jiménez-Ferrer GO, Alayón-Gamboa JA, Chay-Canul  
816 AJ, Ayala-Burgos AJ, ... Ku-Vera JC (2018). Effect of condensed tannins from *Leucaena*  
817 *leucocephala* on rumen fermentation, methane production and population of rumen  
818 protozoa in heifers fed low-quality forage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*  
819 31, (11) 1738.<https://doi.org/10.5713/ajas.17.0192>
- 820 Piñeiro-Vázquez AT, Canul-Solis JR, Alayón-Gamboa JA, Chay-Canul AJ, Ayala-Burgos AJ,  
821 Solorio-Sánchez FJ, ... Ku-Vera JC (2017). Energy utilization, nitrogen balance and  
822 microbial protein supply in cattle fed *Pennisetum purpureum* and condensed tannins.  
823 *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 101, (1) 159-  
824 169.<https://doi.org/10.1111/jpn.12436>
- 825 Ramírez-Restrepo CA, Barry TN, Marriner A, López-Villalobos N, McWilliam EL, Lassey  
826 KR, Clark H (2010). Effects of grazing willow fodder blocks upon methane production and  
827 blood composition in young sheep. *Animal Feed Science and Technology* 155, 33–  
828 43.<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2009.10.003>
- 829 Robbins CT, Mole S, Hagerman AE, Hanley TA (1987). Role of tannins in defending plants  
830 against ruminants: reduction in dry matter digestion? *Ecology* 68, (6) 1606-  
831 1615.<https://doi.org/10.2307/1939852>
- 832 Shakeri P, Riasi A, Alikhani M, Fazaeli H, Ghorbani GR (2013). Effects of feeding pistachio  
833 by-products silage on growth performance, serum metabolites and urine characteristics in  
834 Holstein male calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 97, (6) 1022-  
835 1029.<https://doi.org/10.1111/jpn.12005>



- 836 Sharma RK, Singh B and Sahoo A (2008). Exploring feeding value of oak (*Quercus incana*)  
837 leaves: Nutrient intake and utilization in calves. *Livestock Science* 118, (1-2) 157-  
838 165.<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2008.01.022>
- 839 Sliwinski BJ, Kreuzer M, Sutter F, Machmuller A, Weststein HR (2004). Performance, body  
840 nitrogen conversion and nitrogen emission from manure of dairy cows fed diets  
841 supplemented with different plant extracts. *Journal Animal Feed Science* 13, 73-  
842 91.<https://doi.org/10.22358/jafs/67390/2004>
- 843 Stewart EK, Beauchemin KA, Dai X, MacAdam JW, Christensen RG, Villalba JJ (2019). Effect  
844 of tannin-containing hays on enteric methane emissions and nitrogen partitioning in beef  
845 cattle. *Journal of Animal Science* 97, (8) 3286-3299. <https://doi.org/10.1093/jas/skz206>
- 846 Tavendale MH, Meagher LP, Pacheco D, Walker N, Attwood GT, Sivakumaran S (2005).  
847 Methane production from in vitro rumen incubations with *Lotus pendunculatus* and  
848 *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis.  
849 *Animal Feed Science and Technology* 123-124, 403-  
850 419.<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.037>
- 851 Tharayil N, Suseela V, Triebwasser DJ, Preston CM, Gerard PD, Dukes JS (2011). Changes in  
852 the structural composition and reactivity of *Acer rubrum* leaf litter tannins exposed to  
853 warming and altered precipitation: climatic stress-induced tannins are more reactive. *New*  
854 *Phytologist* 191, 132-145.<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03667.x>
- 855 Van Soest PJ (1965). Symposium on factors influencing the voluntary intake of herbage by  
856 ruminants: voluntary intake in relation to chemical composition and digestibility. *Journal*  
857 *of Animal Science* 24, (3) 834-843.<https://doi.org/10.2527/jas1965.243834x>
- 858 Vasta V, Daghighi M, Cappucci A, Buccioni A, Serra A, Viti C, Mele M. (2019). Invited review:  
859 Plant polyphenols and rumen microbiota responsible for fatty acid biohydrogenation, fiber

- 860 digestion, and methane emission: Experimental evidence and methodological approaches.  
861 *Journal of Dairy Science* 102, (5) 3781-3804.<https://doi.org/10.3168/jds.2018-14985>
- 862 Ventura-Cordero, J., Gonzalez-Pech, P.G., Jaimez-Rodriguez, P.R., Ortiz-Ocampo,  
863 G.I., Sandoval-Castro, C.A., Torres-Acosta, J.F. de J., 2018. Feed resource selection of  
864 Criollo goats artificially infected with *Haemonchus contortus*: nutritional wisdom and  
865 prophylactic self-medication. *Animal*, 12, 1269-1276.  
866 <https://doi:10.1017/S1751731117002634>
- 867 Waghorn GC John A, Jones WT, Shelton ID (1987). Nutritive value of *Lotus corniculatus* L.  
868 containing low and medium concentrations of condensed tannins for sheep. *Proc. New*  
869 *Zealand Society Animal Production* 47, 25–30. Available on: <  
870 <http://www.nzsap.org/system/files/proceedings/1987/ab87006.pdf> > Accessed
- 871 Waghorn GC, Jones WT, Shelton ID, McNabb WC (1990). Condensed tannins and the nutritive  
872 value of herbage. *Proc. New Zealand Society Animal Production* 51, 171–176. Available  
873 on: < [https://www.grassland.org.nz/publications/nzgrassland\\_publication\\_993.pdf](https://www.grassland.org.nz/publications/nzgrassland_publication_993.pdf) >.
- 874 Zago D, Canozzi MEA and Barcellos JOJ (2019). Pregnant cow nutrition and its effects on  
875 foetal weight—a meta-analysis. *The Journal of Agricultural Science* 157, (1) 83-  
876 95.<https://doi.org/10.1017/S0021859619000315>.
- 877

878 **Appendix A.** Changes in mean difference of variables DMI-beef and dairy, ADG and Y with the removal of studies

Variable	MD <sup>1</sup>	Amplitude in MD change	Influential Reference
		-0.011	Dey <i>et al.</i> (2009)
		-0.055	Griffins <i>et al.</i> (2013)
		-0.059	Jolazadeh <i>et al.</i> (2015)
DMI-beef	-0.092	0.112	Krueger <i>et al.</i> (2010)
		-0.029	Sharma <i>et al.</i> (2018)
		-0.129	Abogaye <i>et al.</i> (2018)
		-0.145	Piñero-Vázquez <i>et al.</i> (2016)
		-0.149	Aboagye <i>et al.</i> (2018)
ADG	-0.092	-0.150	Koenig <i>et al.</i> (2018)
		-0.116	Krueger <i>et al.</i> (2010)
		-0.282	Aguerre <i>et al.</i> (2016)
DMI-dairy	-0.202	-0.058	Jami <i>et al.</i> (2012)
		0.423	Aguerre <i>et al.</i> (2016)
MY	-0.339	0.027	Jami <i>et al.</i> (2012)

0.444

Henke *et al.* (2016)

879 <sup>1</sup> in kg/d; MD: mean difference; DMI-beef: Dry matter intake beef; ADG: Average daily gain; DMI-dairy: Dry matter intake dairy; MY: Milk  
 880 yield.

881

882

883 **Appendix B.** Risk of bias (classified as low, unclear, and high) of the 30 studies included in the meta-analysis of tannin on performance in beef  
 884 and dairy cattle.

Reference	Outcome evaluated	Sequence generation	Selection bias	Performance bias	Detection bias	Attrition bias	Reporting bias
			Allocation concealment	Personnel binding	Blinding of outcome assessment	Incomplete outcome data	Selective outcome reporting
Aboagye <i>et al.</i> (2018)	DMI/ADG	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Aguerre <i>et al.</i> (2016)	DMI/MY	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Alves <i>et al.</i> (2015)	DMI/MY	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Ávila <i>et al.</i> (2015)	DMI	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Beauchamin <i>et al.</i> (2007)	DMI/ADG	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Bhatta <i>et al.</i> (2000)	DMI	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Bouchard <i>et al.</i> (2013)	DMI	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Cherif <i>et al.</i> (2018)	DMI/MY	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Christensen <i>et al.</i> (2015)	DMI/MY	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear

Cieslak <i>et al.</i> (2012)	MP	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Chung <i>et al.</i> (2013)	DMI	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Dey <i>et al.</i> (2009)	DMI/MY	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Dey and De (2014)	DMI/MY	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Dschaak <i>et al.</i> (2011)	DMI/MY	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Ebert <i>et al.</i> (2017)	DMI/ADG	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Grainger <i>et al.</i> (2009)	DMI/MY	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Granum <i>et al.</i> (2007)	DMI	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Grosse Brinkhaus <i>et al.</i> (2016)	DMI/MY	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Henke <i>et al.</i> (2016)	DMI/MY	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Jami <i>et al.</i> (2012)	DMI/MY	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Jolazadeh <i>et al.</i> (2015)	DMI/ADG	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Kang <i>et al.</i> (2014)	DMI	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Koenig <i>et al.</i> (2018)	DMI/ADG	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Krueger <i>et al.</i> (2010)	DMI/ADG	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Liu <i>et al.</i> (2013)	DMI/MY	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear

Mezzomo <i>et al.</i> (2011)	DMI	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Piñero-Vázquez <i>et al.</i> (2016)	DMI	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Piñero-Vázquez <i>et al.</i> (2018)	DMI	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Shakeri <i>et al.</i> (2013)	DMI/ADG	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear
Sharma <i>et al.</i> (2008)	DMI/ADG	Low	Unclear	Unclear	Low	Low	Unclear

885 *Note:* DMI: dry matter intake; ADG: average daily gain; MY: milk yield

886

887

888 **Appendix C.** Descriptive summary of each relevant study included in this MA and meta-regression (30)

Reference	Country	Language	Numbers of animals control or treated	Outcome measure <sup>1</sup>	Day with intervention <sup>2</sup>	Tannin source plant
Aboagye <i>et al.</i> (2018)	Canada	English	15	DMI/ADG	72	Chestnut and Quebracho
Aguerre <i>et al.</i> (2016)	United State	English	12	DMI/MY	21	Chestnut and Quebracho
Alves <i>et al.</i> (2015)	Brazil	English	6	DMI/MY	Not reported	<i>Acacia mearnsii</i>
Ávila <i>et al.</i> (2015)	Brazil	English	4	DMI	Not reported	<i>Acacia mearnsii</i>
Beauchamin <i>et al.</i> (2007)	Canada	English	12	DMI/ADG	Not reported	Quebracho

Bhatta <i>et al.</i> (2000)	India	English	3 DMI	Not reported	<i>Tamarindus indica</i>
Bouchard <i>et al.</i> (2013)	Canada	English	20 DMI	Not reported	Sainfoin
Cherif <i>et al.</i> (2018)	Canada	English	3 DMI/MY		35 <i>Vicia faba</i>
Christensen <i>et al.</i> (2015)	United State	English	9 DMI/MY		21 <i>Birdsfoot trefoil</i> hay
Cieslak <i>et al.</i> (2012)	Poland	English	4 MY	Not reported	<i>Vaccinium vitis idaea</i>
Chung <i>et al.</i> (2013)	Canada	English	4 DMI	Not reported	Sainfoin
Dey <i>et al.</i> (2009)	India	English	12 DMI/MY		60 <i>Ficus infectoria</i>
Dey and De (2014)	India	English	9 DMI/MY		60 <i>Ficus bengalensis</i>
Dschaak <i>et al.</i> (2011)	United State	English	4 DMI/MY	Not reported	Quebracho
Ebert <i>et al.</i> (2017)	United State	English	9 DMI/ADG		90 Quebracho
Grainger <i>et al.</i> (2009)	Australia	English	5 DMI/MY	Not reported	<i>Acacia mearnsii</i>
Granum <i>et al.</i> (2007)	Thailand	English	12 DMI		90 Cassava hay
Grosse Brinkhaus <i>et al.</i> (2016)	Switzerland	English	9 DMI/MY	Not reported	Sainfoin; <i>Birdsfoot trefoil</i>
Henke <i>et al.</i> (2016)	Germany	English	25 DMI/MY		21 Quebracho

Jami <i>et al.</i> (2012)	Israel	English	10 DMI/MY	42	<i>Pomegranate peel</i>
Jolazadeh <i>et al.</i> (2015)	Iran	English	7 DMI/ADG	Not reported	<i>Pistachio hulls</i>
Kang <i>et al.</i> (2014)	Thailand	English	4 DMI	21	<i>Banana flower powder</i>
Koenig <i>et al.</i> (2018)	Canada	English	9 DMI/ADG	52	<i>Acacia mearnsii</i>
Krueger <i>et al.</i> (2010)	United State	English	12 DMI/ADG	12	Chestnut ( <i>Castanea sativa</i> Mill); Mimosa Powder ( <i>Acacia mearnsii</i> )
Liu <i>et al.</i> (2013)	China	English	10 DMI/MY	21	Chestnut ( <i>Castanea sativa</i> )
Mezzomo <i>et al.</i> (2011)	Brazil	English	4 DMI	21	Quebracho
Piñero-Vázquez <i>et al.</i> (2016)	Mexico	English	5 DMI	18	Quebracho
Piñero-Vázquez <i>et al.</i> (2018)	Mexico	English	5 DMI	19	<i>Leucaena leucocephala</i>
Shakeri <i>et al.</i> (2013)	Iran	English	6 DMI/ADG	90	Pistachio by-product silage
Sharma <i>et al.</i> (2008)	India	English	5 DMI/ADG	36	Oak ( <i>Quercus incana</i> )

889 <sup>1</sup>ADG: average daily gain; DMI: dry matter intake; MY: milk yield; <sup>2</sup> Day with tannin in experiment: experimental period the animals were  
890 subjected to the tannin, when it was clear from the text was not mentioned or not, it was considered not reported.



**Appendix D.** Descriptive characteristics of 30 publications reporting 67 studies included in the meta-analysis and meta-regression on the tannin supplementation for beef and dairy cattle and its effects on DMI, ADG and MY.

Variable	Categories	Number of studies (trials)
Tannin source	Extract	22 (53)
	Whole plant/grain	8 (16)
	CT	21 (42)
Treatment (type of tannin)	HT	3 (4)
	Blend	6 (16)
	Not reported	3 (8)
	<10	12 (20)
	11 – 100	20 (37)
Dosage of tannin in diet (g/kg)	101 – 200	3 (3)
	201 – 300	1 (2)
	301 – 400	2 (2)
	>400	3 (4)
Beef or Dairy	Beef	21 (54)
	Dairy	28 (57)
Year of publication	1990 - 2010	7 (14)
	2011 - 2018	23 (55)
Production system	Pasture	1 (2)
	Feedlot	14 (32)
	Semi-confined	1 (1)
Forage (%)	0 – 20	1 (2)
	21 – 40	6 (15)
	41 – 60	11 (21)
	61 – 80	2 (4)
	>80	5 (17)
Neutral detergent fiber (g/kg)	0 – 200	4 (10)
	201 – 400	11 (25)

	401 – 600	11 (21)
	>601	5 (12)
Crude protein (g/kg)	0 – 100	2 (6)
	101 – 200	22 (49)
	>200	6 (13)
	Low*	0
Energy	Medium**	6 (14)
	High***	8 (20)
	Not reported	2 (3)

---

CT: condensed tannin; HT: hidrolysabe tannin; \*Low: did not met the nutritional requirements; \*\*met nutritional requirements; \*\*\* the diet had energy above the requirements (NRC, 2000; 2001).

## **CAPÍTULO III**

---

Artigo preparado de acordo com as normas da revista *Animal Feed Science and Technology*  
(Apêndice)

Os apêndices presentes no artigo serão submetidos como informações suplementares

1 **Efeitos do uso de taninos na fermentação ruminal de bovinos: meta-análise**

2

3 D. D. Brutti<sup>1</sup>, M. E. A. Canozzi<sup>2</sup>, E. D. Sartori<sup>1</sup>, J. O. J. Barcellos<sup>1\*</sup>

4

5 <sup>1</sup>*Universidade Federal Rio Grande do Sul - UFRGS, Faculdade de Agronomia, Departamento*  
6 *de Zootecnia, Núcleo de Estudos em Sistemas de Produção de Bovinos de Corte e Cadeia*  
7 *Produtiva - NESPRO. Av. Bento Gonçalves 7712, 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil.*

8 <sup>2</sup>*Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). Programa Producción de Carne y Lana.*  
9 *Estación Experimental INIA La Estanzuela. Ruta 50, km 11, 39173, Colonia, Uruguay.*

10

11 \* **Autor para correspondência:** Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do  
12 Sul. Av. Bento Gonçalves n. 7712, 91540-000, Porto Alegre, RS, Brasil. Fone: +55 51 3308 6042.

13 E-mail: [julio.barcellos@ufrgs.br](mailto:julio.barcellos@ufrgs.br)

## 14 **Resumo**

15 Esta revisão sistemática-meta-análise (MA) estima o impacto da inclusão de taninos em dietas  
16 de bovinos de corte e leite em ácidos graxos de cadeia curta (SCFA), nitrogênio amoniacal (N-  
17 NH<sub>3</sub>), digestibilidade da matéria seca (DMD) e produção de metano (CH<sub>4</sub>). Os efeitos são  
18 descritos de acordo com as fontes (natural ou extrato), tipos (condensado, CT ou hidrolisado,  
19 HT ou blend), concentração de tanino total na fonte e doses. A busca foi realizada em cinco  
20 bases de dados eletrônicas - CAB-Abstracts, PubMed, Scopus, Science Direct e Web of  
21 Science. Protocolos pré-definidos foram usados em todas as etapas do processo de revisão  
22 sistemática. Um MA para efeitos aleatórios foi realizado para cada indicador separadamente  
23 com a diferença média entre os grupos controle (sem tanino) e tratado (com tanino). Para este  
24 estudo, 27 artigos foram incluídos, dos quais 20 eram para SCFA, 20 para N-NH<sub>3</sub>, 14 para  
25 DMD e 10 para CH<sub>4</sub>. A inclusão de HT reduziu a produção total de SCFA ( $P = 0.005$ ). Incluindo  
26 doses entre 100-400 g/kg de um extrato de CT a produção total de SCFA reduziu 0.804 Mm/L  
27 no líquido ruminal do tratado comparado ao controle ( $P < 0.016$ ). Os efeitos dos taninos na  
28 concentração de N-NH<sub>3</sub> são evidentes, seja extrato ou naturalmente na planta e  
29 independentemente do tipo de tanino, o N-NH<sub>3</sub> reduziu ( $P < 0.05$ ). A DMD reduziu com o uso  
30 de um de blend de taninos ( $P = 0.041$ ) e a inclusão de taninos reduziu a produção de CH<sub>4</sub> ( $P =$   
31  $0.005$ ), com moderada heterogeneidade ( $I^2 = 44.5\%$ ). Através dos 27 estudos incluídos,  
32 elucidamos que os taninos afetam a concentração de N-NH<sub>3</sub>, SCFA, DMD e CH<sub>4</sub>. Os efeitos  
33 benéficos dos taninos parecem ser mais fortes quando há dietas com alto valor nutricional,  
34 forragem de alta qualidade, com redução na concentração de N-NH<sub>3</sub> e produção de CH<sub>4</sub>.

35

36 **Abreviações:** CT, tanino condensado; CH<sub>4</sub>, metano; DMD, digestibilidade da matéria seca;  
37 HT, tanino hidrolisado; FDN, fibra em detergente neutro; PEG, polietilenogol; N-NH<sub>3</sub>,

38 nitrogênio amoniacal; MD, diferença média; MS, matéria seca; SCFA, ácidos graxos de

39 cadeia curta

40

41 **Palavras-chave:** aditivos naturais, compostos fenólicos, extratos de plantas, ruminantes

42

## 43 **Introdução**

44 Os processos de fermentação ruminal, de maneira geral, são considerados ineficientes,  
45 já que cerca de 50% da proteína da dieta pode ser convertida em amônia e excretada via urina  
46 (Callaway et al. 2003). Esta baixa eficiência em conversão do nitrogênio em proteína animal,  
47 além de provocar perda de energia e diminuição da produtividade do sistema, também pode  
48 acarretar o aumento da poluição ambiental por nitrogênio (N) (Herremans et al. 2020). Neste  
49 sentido, há uma crescente pressão da sociedade sobre os impactos da produção de bovinos sobre  
50 o ambiente, evidenciando a necessidade de novas pesquisas para aumentar a eficiência de  
51 utilização do N, com foco em alternativas naturais (Yang et al. 2015; Huang et al. 2018). Diante  
52 disto, alguns produtos secundários ao metabolismo basal de vegetais, como os taninos, foram  
53 identificados como potenciais mitigadores de bactérias metanogênicas (Fagundes et al. 2020) e  
54 precursor de proteína frente a baixa eficiência do uso de N, pela capacidade de reduzir a sua  
55 degradabilidade no rúmen (Broderick 2017).

56 Com a habilidade de formar complexos com proteínas e carboidratos no ambiente  
57 ruminal, os taninos podem melhorar o uso de N e diminuir a produção de CH<sub>4</sub> (Patra and Saxena  
58 2011). O complexo tanino-proteína forma uma camada protetora nas proteínas, o que impede a  
59 degradação pelas bactérias, os quais são favorecidos em condições de pH 6,0 e 7,0, como no  
60 ambiente ruminal, e somente se dissociam em condições de pH 2,5 - 3,0 (Jones e Mangan 1977;  
61 McMahon et al. 2000). Dependendo da fonte do tanino (origem), estrutura molecular e química,  
62 quantidade consumida e dieta basal (Makkar 2003; Patra e Saxena 2011; Abogaye et al. 2018),  
63 os efeitos dos taninos podem ser inexpressivos, benéficos ou até mesmo prejudiciais (Frutos et  
64 al. 2020).

65 Efeitos mais representativos podem ser observados quando há a combinação de taninos  
66 condensados (CT) e taninos hidrolisados (HT), pois ambos podem melhorar o uso de N. Os CT  
67 inibem a ligação com o hidrogênio disponível para bactérias metanogênicas (Reed 1995),

68 enquanto os HT podem operar de forma tóxica para o desenvolvimento de metanógenos  
69 (Jayanegara et al. 2015). Estudo desenvolvido por Fagundes et al. (2020) demonstrou que a  
70 inclusão de extrato *Acacia mearnsii* (tanino condensado, CT) em doses de até 2.5% da MS para  
71 bovinos Zebu reduziu a produção de metano em 33% em uma dieta de alta qualidade. Norris et  
72 al. (2020) notaram que a inclusão de Quebracho associado a dieta de alta qualidade, reduziu a  
73 excreção de N urinário e a concentração de N-NH<sub>3</sub>, porém com um aumento linear na produção  
74 total de SCFA.

75 Inúmeros estudos comprovaram atividade benéfica dos taninos, com ações importantes na  
76 fermentação ruminal (Beauchemin et al. 2007; Brutti et al. 2018; Aderojo et al. 2020; Fagundes  
77 et al. 2020). Contudo, os dados na literatura científica são inconsistentes, uma vez que não  
78 consideram aspectos inerentes à composição dos taninos e sua interação no rúmen com  
79 diferentes tipos de dietas. Assim, esta revisão sistemática e meta-análise avaliou os efeitos dos  
80 taninos sobre a produção total de ácidos graxos de cadeia curta (SCFA), concentração de  
81 nitrogênio amoniacal (N-NH<sub>3</sub>), digestibilidade da matéria seca (DMD) e produção de metano  
82 (CH<sub>4</sub>) de bovinos de corte e leite, considerando fonte (natural ou extrato), tipo (CT, HT ou  
83 blend), concentração total de tanino (na fonte) e dose.

84

## 85 **Métodos**

86 Pergunta de pesquisa e protocolo de busca

87 O presente estudo tem como objetivo identificar os efeitos do uso de taninos na  
88 fermentação ruminal de bovinos de corte e leite. A estratégia de busca foi definida baseada nos  
89 principais conceitos em termos de PICO: população, intervenção, comparador e resultado. Para  
90 a população foram usados os termos: bovine OR “beef cattle OR “dairy cattle” OR steer\* OR  
91 cow\* OR calf\*; para intervenção: tannin\* OR “condensed tannin” OR “hydrolyzed tannin” OR



92 phytochemicals OR tannins\* OR "tannic acid" OR tannin\* OR “plant extract” OR chestnut OR  
93 quebracho OR acacia OR sainfoin OR “natural feed additives”.

94 A população foi definida como bovinos de corte (novilhos, novilhas, bezerros, bezerras)  
95 e bovinos de leite (vacas em lactação e/ou gestando e bezerros leiteiros). A intervenção de  
96 interesse foi a inclusão de tanino na dieta de bovinos. O comparador foi considerado para os  
97 animais submetidos ao mesmo tratamento com ou sem intervenção. Os termos escolhidos para  
98 a busca foram validados pela comparação das referências das revisões de Makkar (2003) e  
99 Jayanegara et al. (2012). Os desfechos (SCFA, N-NH<sub>3</sub>, DMD e CH<sub>4</sub>) não foram incluídos na  
100 busca, como alternativa a ampliar o campo de busca e captar estudos potenciais. Foi utilizado  
101 e testado, previamente, um protocolo de busca, e cada ferramenta de triagem adaptada de  
102 formulários e metodologia desenvolvidos em trabalhos antecedentes (Mederos et al. 2012;  
103 Canozzi et al. 2017). Foram recuperadas publicações relevantes sobre performance (consumo  
104 de matéria seca, ganho médio diário e produção de leite) e parâmetros ruminais (produção total  
105 de SCFA, concentração de N-NH<sub>3</sub>, DMD e produção de CH<sub>4</sub>), entretanto, os resultados de  
106 desempenho não serão apresentados neste artigo.

107 As buscas foram realizadas de agosto a dezembro de 2018 nas bases eletrônicas Scopus  
108 (*Elsevier*, 1960-2018), *Web of Science* (*Clarivate Analytics*, 1945-2018), PubMed (1940-2018),  
109 *ScienceDirect* (*Elsevier*, 1960-2018) e *CAB-Abstracts* (*Thomson Reuters*, 1910-2018). As  
110 referências identificadas foram exportadas para o software EndNote Web<sup>®</sup> (Thomson Reuters,  
111 Nova York, EUA) para organizar e remover referências duplicadas.

112

113 Critérios de seleção de estudos e triagem de relevância

114 Nesta etapa, dois revisores previamente treinados avaliaram, independentemente, as  
115 citações mediante análise do título, do resumo e das palavras-chave de cada resumo. A pesquisa  
116 foi excluída quando todos os revisores responderam “não” a pelo menos uma das seguintes

117 premissas: (1) é um estudo primário?; (2) avaliou os efeitos dos taninos na alimentação de  
118 bovinos de corte ou leite? e (3) avaliou pelo menos uma das variáveis resposta de interesse  
119 (SCFA, N-NH<sub>3</sub>, DMD ou CH<sub>4</sub>). Em caso de divergência, os revisores tratavam de chegar a um  
120 consenso para aprovar ou excluir a publicação. Nenhuma restrição de idioma ou ano de  
121 publicação foi aplicada nesta etapa. Foram incluídos estudos randomizados e não  
122 randomizados. O software Microsoft Excel<sup>®</sup> foi utilizado em todas as etapas de triagem.

123

#### 124 Avaliação metodológica e extração de dados

125 Manuscritos que relataram mais de um estudo tiveram seus dados extraídos como estudos  
126 independentes. As informações extraídas de cada estudo foram divididas em informações  
127 específicas (população, intervenção) e informações gerais (autores, ano de publicação e idioma  
128 original). Neste momento, só foram considerados estudos nos idiomas inglês, espanhol e  
129 português.

130 Foram extraídos todos os dados referentes ao uso de tanino e classificados em HT, CT,  
131 blend (HT + CT). Esta categorização seguiu os critérios mencionados por Jayanegara et al.  
132 (2015) e Jayanegara et al. (2018).

133

#### 134 Considerações para coleta e manipulação de dados

135 Para cada variável de interesse, foi extraída a média, o erro padrão da média ou outra  
136 medida de dispersão disponível, o valor de probabilidade (P) e o número de animais avaliados  
137 em cada grupo (controle e tratamento). O desvio padrão agrupado (Sp) foi obtido quando um  
138 erro padrão geral da média (SEMp) foi mencionado para os grupos de controle e tratado  
139 (Higgins e Green 2011), através da fórmula:

140

$$Sp = SEM_p \times \sqrt{n_p}$$

141 em que  $n_p$  é o número de animais nos grupos de tratamento e controle.

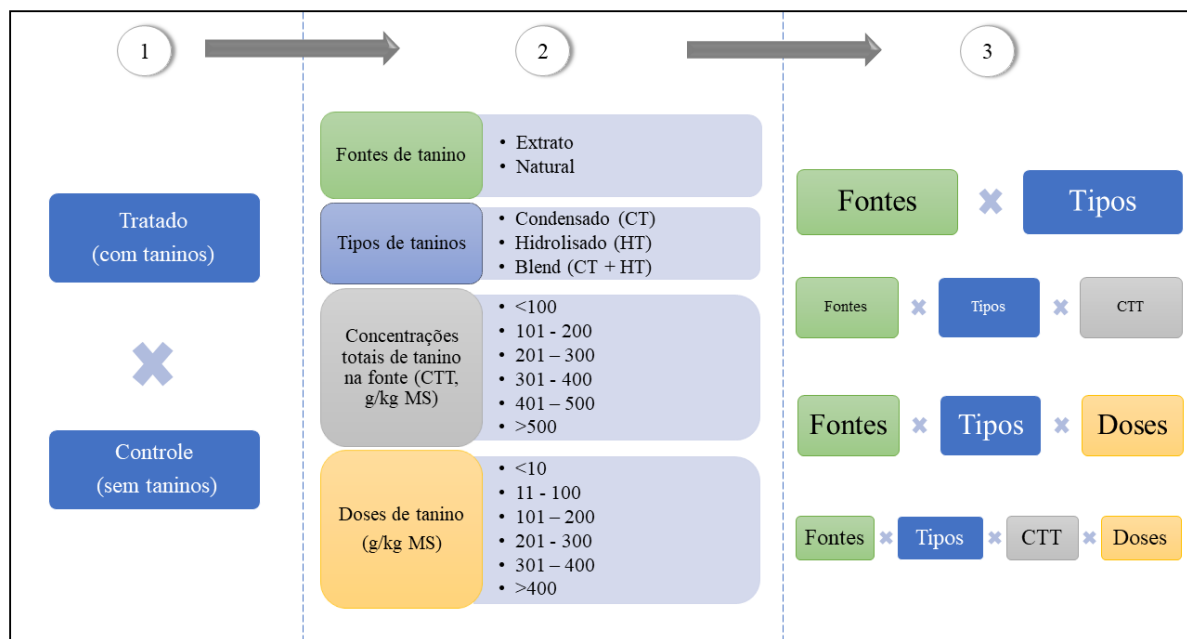
142 Quando necessário, os dados foram transformados para que ficassem na mesma base.  
143 Para tanto, as transformações de N-NH<sub>3</sub> foram baseadas na concentração molar do N e  
144 transformadas para a base de Mm/L. Da mesma maneira, para CH<sub>4</sub>, quando necessário,  
145 utilizado a concentração molar e transformadas em gr./dia.

146

147 Meta-análise - MA

148 A diferença média (MD) foi estimada entre o tratado e o controle e o intervalo de  
149 confiança de 95% (IC 95%) foi obtido. Partindo do pressuposto de que havia diferenças  
150 experimentais nos desenhos entre os estudos, a heterogeneidade foi assumida e estimada pelo  
151 método DerSimonian e Laird (1986).

152 Cada resultado foi avaliado separadamente como um grupo, gerando uma MD  
153 combinada e um IC de 95% (gráfico de floresta). Para cada variável-resposta foi realizada uma  
154 MA geral para verificar o efeito do uso ou não de tanino (tratado x controle), seguido de análises  
155 de subgrupos, considerando fonte (extrato ou naturalmente), tipo (CT, HT ou blend),  
156 concentração total de taninos (naturalmente ou extrato) e dose. Posteriormente, testamos as  
157 interações entre estes subgrupos (Figura 1). Como havia variabilidade de concentrações totais  
158 de taninos e doses nos estudos, estas foram categorizadas. Dessa forma, a concentração total de  
159 taninos na planta ou extrato foi classificada em: <100, 101 – 200, 201 – 300, 301 – 400, 401 –  
160 500, >501 g/kg de MS. Para a dose de tanino, a classificação foi descrita em: <10, 11 – 100,  
161 101 – 200, 201 – 300, >400 g/kg de MS.



162  
 163 **Figura 1.** Meta-análise com e sem a inclusão de taninos dos 27 estudos; 2. Análise de subgrupos  
 164 conforme a fonte, tipo, concentração total e dose de tanino em dietas de bovinos de corte e leite;  
 165 3. Interações entre subgrupos, fontes e tipos, fontes, tipos e CTT; fontes, tipos e doses; fontes,  
 166 tipos, CTT e doses.

167

168 O teste Q de Cochran (teste de heterogeneidade do qui-quadrado) e  $I^2$  (percentagem da  
 169 variação total entre os estudos devido à heterogeneidade e não ao acaso) foram calculados com  
 170 base no resultado. A magnitude de  $I^2$  foi considerada baixa, moderada ou alta heterogeneidade  
 171 quando os valores foram da ordem de 25%, 50% e 75%, respectivamente (Higgins et al. 2003).  
 172 Foi utilizado o software Stata V 14.0 (Stata Corp., Texas, EUA) em todas as análises  
 173 estatísticas. As diferenças foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$  e as tendências  
 174 quando  $0,05 \leq P < 0,1$ . Para a interpretação dos resultados, quando positivos (em favor do  
 175 tratado) indica que houve uma redução na variável de interesse e quando negativo (em favor do  
 176 tratado), um aumento da variável resposta.

177

178 Meta-regressão

179 Para explorar as possíveis fontes de heterogeneidade entre os estudos, o método de  
 180 momentos em um modelo de efeito aleatório foi realizado (Borenstein et al. 2009). As variáveis

181 avaliadas foram: ano de publicação, continente (América do Norte, América Central, América  
182 do Sul, Europa ou Ásia), sistema de produção (pasto, semiconfinamento e confinamento),  
183 gênero(macho, fêmea ou ambos), espécie bovina (*Bos taurus*, *Bos indicus* ou mestiço), peso  
184 inicial (kg), randomização (não ou sim), controle de agrupamento (não, sim ou não aplicável),  
185 fatores de confusão identificados e controlados (não, sim ou não aplicável), cegamento, dias  
186 com intervenção (dias com tanino), fonte (extrato ou natural), tipo de tanino (CT, HT ou blend),  
187 concentração total de tanino (<100, 101 – 200, 201 – 300, 301 – 400, 401 – 500, >501 g/kg de  
188 MS), dose (<10, 11 – 100, 101 – 200, 201 – 300, >400 g/kg de MS), porcentagem de forragem  
189 na dieta, fibra em detergente neutro (FDN; g/kg), proteína bruta da dieta (PB; g/kg) e energia  
190 da dieta (alta, média ou baixa; NRC, 2000; 2001).

191

## 192 Avaliação de qualidade

193 O risco de viés nos estudos individuais incluídos nesta MA foi avaliado com base na  
194 ferramenta *Cochrane Collaboration* (Higgins e Green, 2011). O risco de viés para o domínio  
195 de cegamento foi considerado baixo para os desfechos considerados, independentemente de a  
196 avaliação do desfecho de cegamento ter sido usada ou não (apêndice).

197

## 198 Viés de publicação

199 A avaliação do viés de publicação foi realizada de forma visual, através do gráfico de funil,  
200 e de forma estatística, pela correlação de Begg e testes de regressão linear de Egger, para cada  
201 variável-resposta. Na presença de viés de publicação ( $P < 0,10$ ), o método de *trim and fill* foi  
202 aplicado para estimar a magnitude do viés (Duval e Tweedie, 2000). Esse método visa indicar a  
203 quantidade de estudos que devem ser adicionados na análise para obter uma simetria no gráfico  
204 de funil.

205

206 Meta-análise cumulativa e análise de sensibilidade

207 A MA cumulativa mais comum é aquela realizada considerando o ano de publicação do  
208 manuscrito, ou seja, mediante sorteio de forma cronológica. Um novo MD é obtido cada vez  
209 que um novo estudo é adicionado.

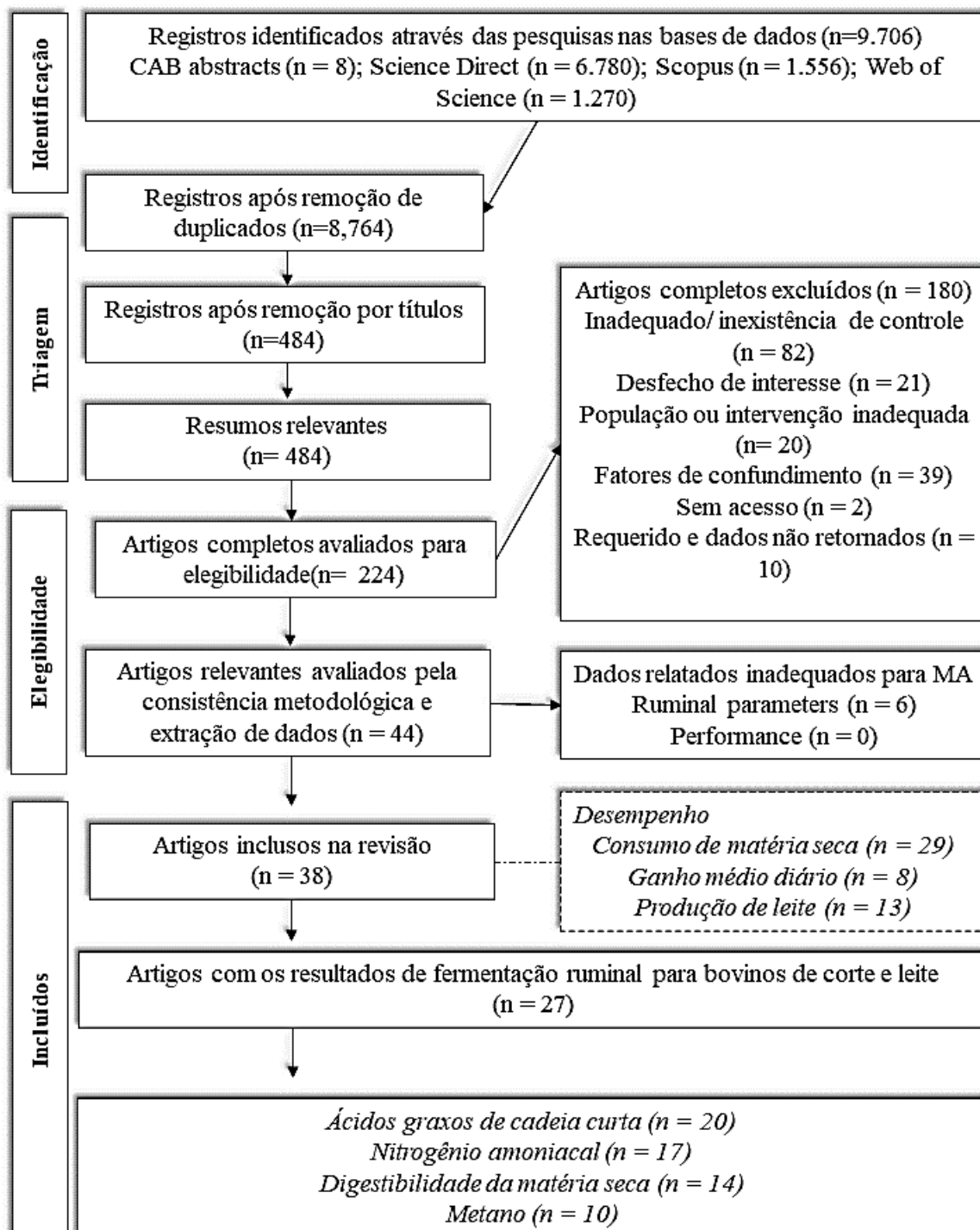
210 Análises de sensibilidade foram conduzidas para verificar se determinados estudos  
211 influenciaram a medida do efeito (MD), removendo manualmente um estudo por vez e  
212 avaliando se a MD variou  $\pm 30\%$  antes de incluir o próximo estudo (Egger et al. 2001;  
213 Borenstein et al. al. 2009).

214

## 215 **Resultados**

216 A busca nas cinco bases de dados detectou 9.706 citações (Figura 2). Os desfechos de  
217 SFCA, N-NH<sub>3</sub>, DMD e CH<sub>4</sub> somaram um total de 27 estudos e 172 ensaios, sendo 20 estudos  
218 e 65 ensaios para SCFA, 17 estudos e 58 ensaios para N-NH<sub>3</sub>; 14 estudos e 27 ensaios para  
219 DMD; 10 estudos e 22 ensaios para metano (apêndice).

220



221

222 **Figura 2.** Diagrama de fluxo indicando o número de resumos e publicações incluídos e  
 223 excluídos em cada nível da revisão sistemática sobre o tanino na nutrição de bovinos de corte  
 224 e leite e os efeitos na fermentação ruminal. **Fonte:** adaptado de Moher et al. (2009).

225

226 Meta-análise: ácidos graxos de cadeia curta e concentração de nitrogênio amoniacal

227 Em uma análise global entre os 20 estudos incluídos na MA para SCFA, não foi  
228 observado efeito significativo ( $P = 0.206$ ) e a heterogeneidade foi moderada ( $I^2 = 49.0\%$ ).

229 Na análise desta heterogeneidade, identificou-se que a inclusão de HT afetou a produção total  
230 de SCFA ( $P = 0.005$ ; Tabela 1). Tanino HT de uma fonte extrato reduziu 0.404 Mm/L a  
231 produção total de SCFA no líquido ruminal do grupo tratado ( $n = 3$  estudos;  $n = 14$  ensaios; CI  
232 95% 0.120, 0.688;  $P = 0.005$ ), com heterogeneidade nula ( $I^2 = 0.0\%$ ). Doses entre 101-200 g/kg  
233 de MS de um extrato de CT reduziu 0.804 Mm/L a produção total de SCFA nos animais do  
234 grupo tratado ( $n = 2$  estudos;  $n = 5$  ensaios; CI 95% 0.153, 1.456;  $P = 0.016$ ;  $I^2 = 0\%$ ). Extratos  
235 de HT reduziram ( $n = 2$  estudos;  $n = 8$  ensaios; MD = 0.450 Mm/L; CI 95% 0.073, 0.827;  $P =$   
236 0.019) a produção total de SCFA, sendo este efeito observado em doses entre 11-100 g/kg de  
237 MS, com heterogeneidade nula ( $I^2 = 0\%$ ).

238 A presença de taninos afetou a concentração de N-NH<sub>3</sub> ( $P = 0.0001$ ), com elevada  
239 heterogeneidade ( $I^2 = 83.7\%$ ; Tabela 1). As interações entre fontes x tipos de taninos, fontes x  
240 tipos x concentrações totais e fontes x tipos x doses reduziram a concentração de N-NH<sub>3</sub> no  
241 tratado (Tabela 2).

242

243 Meta-análise: digestibilidade da matéria seca e produção de metano

244 A DMD comparando o grupo tratado e controle não foi significativa, contudo, a  
245 heterogeneidade foi alta ( $I^2 = 80.2\%$ ). Na análise de subgrupos, os efeitos das fontes de taninos,  
246 tipos, concentrações totais e doses não afetaram a DMD (Tabela 3).

247

248



249 **Tabela 1.** Produção total de ácidos graxos de cadeia curta (SCFA; Mm/L) e concentração de N-amoniacoal (N-NH<sub>3</sub>; Mm/L) em bovinos, conforme  
 250 a fonte de taninos, tipos de taninos, concentração total de taninos na fonte e doses.

Variáveis	SCFA				N-NH <sub>3</sub>			
	<i>N (ensaios)</i>	<i>MD<sup>1</sup> (P)</i>	<i>95% CI<sup>2</sup></i>	<i>I<sup>2</sup>(%)</i>	<i>N (ensaios)</i>	<i>MD (P)</i>	<i>95% CI</i>	<i>I<sup>2</sup>(%)</i>
Fontes de tanino								
Extrato	15 (58)	0.193 (0.083)	-0.026; 0.412	50.3	14 (51)	1.664 (0.001)	1.160; 2.168	80.3
Natural	3 (7)	0.365 (0.085)	-0.051; 0.780	29.5	3 (7)	1.440 (0.104)	1.524; 2.983	90.7
Tipos de taninos								
CT	14 (39)	0.074 (0.623)	-0.223; 0.372	52.9	12 (32)	1.518 (0.001)	0.617; 2.420	85.4
HT	3 (14)	0.404 (0.005)	0.120; 0.688	0.00	3 (14)	3.469 (0.001)	2.296; 4.642	84.1
Blend	3 (9)	0.206 (0.515)	-0.414; 0.826	68.6	3 (9)	0.907 (0.001)	0.564; 1.249	0.00
Concentrações totais de taninos na fonte (g/kg MS)								
<100	6 (14)	0.208 (0.201)	-0.111;	28.6	6 (12)	1.145 (0.093)	-0.190;	89.8
101 - 200	3 (6)	-0.170 (0.800)	0.527	80.2	2 (3)	1.520 (0.001)	2.480	0.00
201 – 300	-	-	-1.482; 1.143	-	-	-	0.778; 2.262	-

301 - 400	-	-	-	-	-	-	-	-
401 - 500	-	-	-	-	-	-	-	-
>500	7 (33)	0.226 (0.171)	-	54.8	6 (29)	3.191 (0.001)	-	82.3
			-0.098; 0.549				2.317; 4.065	
Doses (g/kg MS)								
<10	11 (20)	0.238 (0.075)	-0.024; 0.500	24.8	9 (17)	0.786 (0.075)	0.052; 1.519	85.4
11 - 100	11 (29)	-0.045 (0.783)	-0.363; 0.273	56.6	10 (25)	1.478 (0.783)	0.879; 2.076	75.8
101 - 200	4 (12)	0.856 (0.002)	0.319; 1.392	40.9	3 (12)	5.196 (0.002)	3.085; 7.308	83.7
201 - 300	1 (1)	-	-	-	1 (1)	-	-	-
301 - 400	1 (1)	-	-	-	-	-	-	-
>400	2 (2)	0.081 (0.847)	-0.797; 0.958	0.00	-	-	-	-

251 CT: taninos condensados; HT: taninos hidrolisados; Blend: CT + HT; <sup>1</sup>MD: diferença média; <sup>2</sup> 95% CI: intervalo de confiança;  $P = 0.05$  e tendência ( $0.05 \leq P < 0.1$ );  $I^2 =$

252 heterogeneidade entre estudos.

253 **Tabela 2.** Efeitos das interações entre fontes x tipos x concentrações totais x doses de taninos sobre a concentração de N-NH<sub>3</sub>

Interação	N (ensaios)	MD <sup>1</sup> (P)	CI 95% <sup>2</sup>	I <sup>2</sup>
Fonte x Tipos taninos				
Extrato				
CT	9 (28)	1.527 (0.0001)	0.674, 2.379	83.5
HT	3 (14)	3.469 (0.0001)	2.296, 4.642	84.1
Blend	3 (9)	0.907 (0.0001)	0.564, 1.249	0.0
Natural				
CT	2 (4)	9.732 (0.024)	1.309, 18.15	93.2
Fonte x Tipo x CTT				
Extrato				
CT				
>500 g/kg MS	6 (18)	1.979 (0.0001)	3.603, 8.502	85.5
	2 (11)	6.052 (0.0001)	3.603, 8.502	85.5
Fonte x Tipo x Dose				
Extrato				
11 – 100 g/kg MS				
CT	6 (13)	1.087 (0.013)	0.230, 1.943	75.2

HT	2 (8)	3.350 (0.001)	1.195, 5.134	82.9
----	-------	---------------	--------------	------

---

254 CT: taninos condensados; HT: taninos hidrolisados; Blend: CT + HT; <sup>1</sup>MD: diferença média em Mm/L; <sup>2</sup> 95% CI: intervalo de confiança;  $P = 0.05$  e tendência ( $0.05 \leq P < 0.1$ );  
255  $I^2 =$  heterogeneidade entre estudos.



301 - 400	-	-	-	-	-	-	-	-
401 - 500	-	-	-	-	4 (7)	-0.424 (0.018)	0.795; -0.053	17.1
>500	4 (7)	0.385 (0.321)	-0.375; 1.145	57.0				41.5
Doses								
<10	5 (10)	0.107 (0.605)	-0.299; 0.514	49.8	5 (9)	-0.258 (0.270)	-0.716; 0.201	39.5
11 - 100	10 (14)	0.478 (0.275)	-0.380; 1.337	87.2	5 (7)	0.489 (0.027)	0.056; 0.921	44.5
101 - 200	1 (1)	-	-	-	2 (2)	-0.366 (0.802)	-3.230; 2.498	88.6
201 - 300	1 (1)	-	-	-	1 (1)	-	-	-
301 - 400	1 (1)	-	-	-	1 (1)	-	-	-
>400	1 (2)	-	-	-	1 (2)	-	-	-

258 DMD: digestibilidade da matéria seca; CH<sub>4</sub>: produção de metano; CT: taninos condensados; HT: taninos hidrolisados; Blend: CT + HT; <sup>1</sup>MD: diferença média; <sup>2</sup> 95% CI:  
 259 intervalo de confiança; P =0.05 e tendência (0.05 ≤ P < 0.1)

260 Não fo encontrado efeito dos taninos sobre a produção de CH<sub>4</sub>, com heterogeneidade  
261 foi moderada ( $I^2 = 64.1\%$ ). A produção de metano foi superior nos animais do grupo que  
262 recebeu taninos ( $P = 0.025$ ) quando a concentração total de taninos era superior a 500 g/kg MS  
263 ( $I^2 = 17.1\%$ ; Tabela 3). A produção de CH<sub>4</sub>, quando adicionadas doses entre 11 e 100 g/kg MS,  
264 reduziu em 4% com o uso de taninos ( $P = 0.005$ ; Tabela 3), com moderada heterogeneidade ( $I^2$   
265 = 44.5%). Nas interações, em concentrações totais acima de 500 g/kg MS de um extrato de CT,  
266 a produção de metano tendeu a aumentar ( $P = 0.089$ ) nos bovinos do grupo tratado com tanino  
267 (MD = -0.361 g/d; CI 95% -0.778, 0.055;  $I^2 = 20.9\%$ ). Doses entre 11 e 100 g/kg MS de extrato  
268 de HT reduziram em 0.807 g/d a produção de CH<sub>4</sub> (CI 95% 0.085, 1.529;  $P = 0.028$ ;  $I^2 = 67.9\%$ ).

269

## 270 Meta-regressão

### 271 Produção total de ácidos graxos de cadeia curta e concentração de N-NH<sub>3</sub>

272 Na presença de taninos, dietas com FDN acima de 201 g/kg MS aumentaram a produção  
273 total de SCFA no líquido ruminal em relação a dietas com FDN inferior a 200 g/kg MS (n = 58  
274 ensaios; Tabela 4). Dentro das variáveis relacionadas aos taninos, observou-se que doses entre  
275 101 e 200 g/kg MS reduziram a produção de SCFA em 0.620 Mm/L no líquido ruminal,  
276 comparado a doses inferiores a 10 g/kg MS. Para a concentração de N-NH<sub>3</sub>, foram considerados  
277 58 ensaios, sendo que quatro variáveis explicaram 95% a variação total entre os estudos (Tabela  
278 4).

279

### 280 Digestibilidade da MS e produção de metano

281 Os efeitos da inclusão de taninos na dieta de bovinos sobre a DMD em relação a qualidade  
282 das dietas, demonstraram que apenas 25.85% da variação total entre os estudos foi explicada

283 **Tabela 4.** Resultados para meta-regressão univariável, mostrando significância ( $P < 0.05$ ) e tendências ( $0.05 \leq P < 0.1$ ) para a covariável  
 284 investigada, como fontes potenciais de heterogeneidade do estudo. Os resultados explicados para cada uma das covariáveis incluídas na meta-  
 285 análise são apresentados para SCFA (Mm/L), N-Amoniacal (Mm/L), DMD (%) e CH<sub>4</sub> (g/d) como um resultado.

Resultado (ensaios)	Variável exploratória	Estimativa <sup>1</sup> ( <i>P</i> )	95% <i>CI</i> <sup>2</sup>	<i>I</i> <sup>2</sup> (%)	Adj-R <sup>2</sup> (%)
Ácidos graxos de cadeia curta (65)	-	-	-0.004, 0.40	49	51
	Ano de publicação	-0.08 (0.042)	-0.15, 0.003	47.53	5.49
	Dias com tanino	0.005 (0.080)	-0.0006, 0.10	48.22	4.32
	País			49.73%	-1.42%
	América do Sul	-0.24, 0.725	-1.63, 1.14		
	Europa	-0.51, 0.054	-1.04, 0.008		
	Ásia	-0.36, 0.185	-0.90, 0.17		
	Raça			44.90%	57.62%
	<i>Bos indicus</i>	-0.24, 0.726	-1.66, 1.15		
	Cruzados	-0.96, 0.000	-1.45, -0.46		
	Tipo de bovino			25.69%	72.03%
	Corte	-	-		
	Leite	0.24, 0.179	-0.11, 0.59		
	Duplo propósito	-1.40, 0.000	-2.03, -0.77		
	FDN (58)			1.33%	100%
	<200				
	201-400	1.08 (0.000)	0.53, 1.63		
	401-600	1.16 (0.000)	0.62, 1.71		
	>601	0.086 (0.018)	0.15 – 1.57		
	Dose de tanino			45.61	11.68
<10					
11 – 100	-0.26, 0.252	-0.71, 0.19			
101 – 200	0.62, 0.049	0.001, 1.25			
201 – 300	0.97, 0.205	-0.54, 2.48			
301 – 400	-0.17, 0.831	-1.86, 1.50			
>400	-0.13, 0.821	-1.35, 1.08			
N – Amoniacal (58)	-	-	0.87, 3.48	83.71	16.29
	Ano de publicação	-0.44 (0.073)	-0.93, 0.04	83.99	7.33
	Peso inicial do bovino	-0.005 (0.009)	-0.008, -0.001	83.57	49.99



Tempo de estudo	-0.03 (0.012)	-0.05, -0.007	82.51	29.27
Tipo de estudo			80.76	51.75
<i>In vivo</i>	-	-		
<i>In vitro</i>	3.07 (0.003)	1.07, 5.07		
<i>In situ</i>	-	-		
Tipo de gado			82.04	23.18
Corte	-	-		
Leite	3.11 (0.010)	0.77, 5.45		
Duplo propósito	-	-		
Proteína Bruta (dieta)			80.63	7.97
<100	-	-		
101 – 200	5.350 (0.001)	2.404, 8.296		
>200	5.068 (0.001)	2.087, 8.050	81.21	31.75
Dose de tanino				
11-100	0.98, 0.373	-1.20, 3.17		
101-200	3.89, 0.012	0.89, 1.55		
201-300	0.43, 0.895	-6.99, 1.38		
301-400	-7.765, 0.008	-13.382, -2.148		
>400	-12.745, 0.000	-19.281, -6.208		
Digestibilidade da MS (27)	-	-0.63, 0.82	80.22	19.78
Tempo de estudo	0.02 (0.0062)	-0.001, 0.51	79.44	17.91
Raça			55.04	12.45
<i>Bos indicus</i>	-1.07 (0.063)	2.22, 0.06		
Cruzados ( <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> )	-1.03 (0.038)	-1.99, -0.06		
FDN (g/kg)			77.98	25.85
<200				
201 - 400	-	-		
401-600	-	-		
>601	-0.14 (0.832)	1.59, 1.29		
Tipo de tanino	-2.08 (0.024)	-3.87, -0.29	67.01	75.30
CT	-	-		
HT	6.24 (0.000)	3.33, 9.16		
Blend	0.67 (0.224)	-0.44, 1.79		

Produção de CH <sub>4</sub> (22)	País	-	-0.17, 0.72	64.11	35.89
	América do Sul	-1.97 (0.071)	0.26, 1.77	53.36	47.18
	Sistema de produção			61	22.23
	Confinamento	-0.42 (0.576)	-1.96, 1.12		
	Semiconfinamento	-2.57 (0.054)	-5.19, 0.05		
	FDN			55.63	41.16
	<200	-	-		
	201-400	0.92 (1.81)	-0.47, 2.32		
	401-600	0.80, (0.132)	-0.26, 1.87		
	>601	1.42 (0.025)	0.19, 2.64		
	Concentração total de tanino (g/kg MS)			0	100
	101-200	-2.06 (0.001)	-3.01, - 1.11		
	Dose de tanino (g/kg MS)			51.63	53.44
	<10				
	11-100		-		
	101-200	0.75 (0.062)	-0.04, 1.55		
	201-300	-0.08 (0.911)	-1.54, 1.38		
	301-400	1.26 (0.190)	-0.69, 3.23		
	>400	1.77 (0.087)	-0.28, 3.83		
		2.44 (0.006)	0.80, 4.09		

286 DMD: digestibilidade da matéria seca; CH<sub>4</sub>: produção de metano; CT: taninos condensados; HT: taninos hidrolisados; Blend: CT + HT; <sup>1</sup>MD: diferença média; <sup>2</sup> 95% CI:  
 287 intervalo de confiança; *P* = 0.05 e tendência (0.05 ≤ *P* < 0.1) *I*<sup>2</sup>: variação residual entre estudos; Adj-R<sup>2</sup>: proporção da variância residual.

288 pela covariável FDN. A presença de taninos, de maneira geral, em estudos com teores de FDN  
 289 superiores a 601 g/kg MS reduziram a DMD e a aumentaram a produção de CH<sub>4</sub>  
 290 respectivamente em 2.08% e 1.42 g/d, comparado a dietas com teores de FDN abaixo de 400  
 291 g/kg MS (Tabela 4).

292

### 293 Viés de Publicação

294 Na inspeção visual do gráfico de funil verificou-se a presença de viés para SCFA, N-  
 295 NH<sub>3</sub> e DMD. Nos testes de Egger e Begg, foi encontrado efeito significativo para SCFA (P =  
 296 0.017) e N-NH<sub>3</sub> (P = 0.0001). Na análise *trim e fill* onze e três estudos foram imputados para  
 297 remover o viés de SCFA e N-NH<sub>3</sub>, respectivamente. A avaliação visual do *funnel plot* para a  
 298 variável CH<sub>4</sub> mostrou que não há indícios de presença de viés de publicação, o que foi  
 299 confirmado pelos testes de Egger (P = 0.810) e Begg (P = 0.844), porém, quando o teste *trim e*  
 300 *fill* foi aplicado, verificou-se que seria necessário imputar dois estudos para remover o viés.

301

### 302 Meta-análise cumulativa e análise de sensibilidade

303 A MA cumulativa para SCFA, N-NH<sub>3</sub>, DMD e CH<sub>4</sub> não demonstrou efeito significativo.  
 304 Na análise de sensibilidade a remoção de doze estudos, mudaram o MD dos resultados de  
 305 SCFA, N-NH<sub>3</sub>, DMD e CH<sub>4</sub> (Tabela 5)

306

307 **Tabela 5.** Mudanças na diferença média (MD) das variáveis SCFA, N-NH<sub>3</sub>, DMD e CH<sub>4</sub> com  
 308 a remoção de estudos.

Variável	MD (P-valor)	Amplitude da mudança no MD	Referência
SCFA <sup>1</sup>	0.202 (0.047)	0.328	Dickhoefer et al. (2016)
		0.055	Hassanat and Benchaar (2012)
N-NH <sub>3</sub> <sup>1</sup>	1.684 (0.001)	0.601	Hassanat and Benchaar (2012)
		-0.047	Bouchard et al. (2013)
		0.306	Chung et al. (2013)
DMD <sup>2</sup>	0.109 (0.632)	0.187	Jami et al. (2012)
		0.218	Sharma et al. (2008)
		0.329	Ebert et al. (2017)
CH <sub>4</sub> <sup>3</sup>	0.205 (0.152)		

0.374	Krueger et al. (2010)
0.058	Piñero-Vázquez et al. (2018)
0.134	Yang et al. (2016)

309 <sup>1</sup> em Mm/L de líquido ruminal; <sup>2</sup> em % de matéria seca; <sup>3</sup> em g/d; SCFA: ácidos graxos de cadeia curta; N-NH<sub>3</sub>:  
 310 nitrogênio amoniacal; DMD: digestibilidade da matéria seca; CH<sub>4</sub>: produção de metano.  
 311

## 312 **Discussão**

313 Este estudo demonstrou que a inclusão de taninos na dieta de bovinos sobre os parâmetros  
 314 ruminais avaliados, provocam maiores alterações na concentração de N-NH<sub>3</sub>. Os resultados da  
 315 meta-regressão para DMD e CH<sub>4</sub> demonstraram que a inclusão de taninos reduziu a DMD e  
 316 aumentou a produção de CH<sub>4</sub> quando há uma dieta com elevado teor de FDN (acima de 601  
 317 g/kg de MS) em comparação a dietas com FDN menor que 400 g/kg de MS. Jayanegara et al.  
 318 (2020) verificou que dietas ricas em forragem e concentrado de boa qualidade têm um efeito  
 319 mais pronunciado quando há ação de extratos vegetais.

320

### 321 **Produção total de SCFA**

322 A inclusão de HT reduziu a produção total de SCFA (Tabela 1). Taninos hidrolisados  
 323 parecem exercer consequências negativas pós-ingestivas para ruminantes mais severas que CT,  
 324 que podem incluir redução na ingestão (Verheyden-Tixier e Duncan 2000), e aumento da  
 325 atividade antimicrobiana (Ekambaram et al. 2016). Esse efeito pode estar relacionado com a  
 326 capacidade dos taninos em complexar proteínas e carboidratos das dietas, processo que  
 327 desencadeia a inibição de enzimas extracelulares e indisponibilidade de substratos para a  
 328 digestão, que causará inativação, ou até a morte de microrganismos ruminais (Smith et al.  
 329 2005). Possivelmente, a redução na produção de SCFA pelos HT pode ser justificada pela baixa  
 330 atividade de microrganismos. Além disso, os taninos, podem inibir a ação da desaminase  
 331 microbiana, contribuindo para uma maior a redução dos SCFA (Leinmuller e Menke 1990).

332 Embora tenha sido observado efeito adverso com HT para a produção total de SCFA,  
 333 possivelmente pela sua toxicidade, quando os ruminantes são expostos a este tipo de tanino a

334 longo prazo, pode ocorrer uma adaptação da microbiota, o que viabiliza o fornecimento.  
335 (Whagorn e McNabb 2003). De maneira geral, os taninos têm efeitos benéficos quando  
336 consideradas as interações com componentes dietéticos. Como demonstrado na meta-regressão,  
337 os efeitos dos taninos aumentaram a produção total de SCFA quando a FDN da dieta estava  
338 entre 200 e 600 g/kg MS, comparado a dietas com menores concentrações de FDN (<200 g/kg  
339 MS).

340 Sabe-se que bovinos alimentados com elevados teores de fibra, apresentam maior  
341 atividade de bactérias fermentadoras de celulose, hemicelulose e pectina. A inibição do efeito  
342 do tanino sobre essas bactérias ruminais fermentadoras de fibra pode ser reduzida pela  
343 superprodução de enzimas ou enzimas resistentes ao tanino, com poucos locais interativos para  
344 ligação ao tanino (Smith et al. 2005). Entretanto, este efeito pode ser resultado de  
345 particularidades dos taninos (*e.g.*, local de origem na planta, como folha, caule, fruto) ou das  
346 dietas, que não podendo ser extrapolado de maneira absoluta para os subgrupos fonte, tipo e  
347 concentração total. Apenas, doses entre 101 e 200 g/kg de MS reduziram a produção total de  
348 SCFA comparado a doses menores (<10 g/kg MS), o que permite supor que doses maiores  
349 podem ter efeito negativo mais acentuado que doses menores (Tabela 4).

350 Taninos adicionados a dietas que contém elevados teores de fibra podem estimular a  
351 atividade celular de bactérias degradadoras de fibra, como a *Fibrobacter Succinogenes*, que são  
352 essencialmente degradadoras de celulose e hemicelulose (Hungate 1950). Além disso, a adição  
353 de taninos pode contribuir para uma menor taxa de degradação da dieta no rúmen e, por sua  
354 vez, sincronizar a liberação de nutrientes (Getachew 2000). Embora os taninos possam diminuir  
355 a disponibilidade de nutrientes no rúmen, eles também podem modular ou alterar a sua  
356 fragmentação, resultando em maior proporção de nutrientes disponíveis para a síntese da massa  
357 microbiana e menor proporção para a produção de SCFA (Perna Júnior et al. 2017). Ao analisar  
358 o efeito dos taninos na produção total de SCFA, deve-se levar em consideração não somente

359 esta variável, mas também a disponibilidade dos demais componentes dietéticos, como a  
360 concentração de N-amoniacal e o tempo para adaptação dos microrganismos ruminais aos  
361 taninos (Makkar 2003).

362 Na análise de sensibilidade para SCFA, em dois estudos de Dickhoefer et al. (2016) e  
363 Hassanat e Benchaar (2012) aumentaram e reduziram a MD, respectivamente. A possibilidade  
364 de aumento na produção de SCFA, provavelmente pelo CT que é um composto com maior  
365 capacidade de aumentar a produção desta variável (Mueller-Harvey et al. 2018). Por outro lado,  
366 o estudo de Hassanat e Benchaar (2012) continha doses mais elevadas de HT, o que  
367 provavelmente causou esta redução.

368

#### 369 Concentração de N-amoniacal

370 Nossos resultados evidenciaram a possibilidade de mitigar a excreção de N com a  
371 inclusão de taninos, visto que ocorreu uma redução significativa na concentração de  $\text{NH}_3$  no  
372 líquido ruminal (Tabela 1) com a inclusão de taninos. A emissão de  $\text{NH}_3$  é estimada em 50 kg/  
373 animal/ano (Wang et al. 2018). O N-amoniacal é um subproduto produzido da fermentação  
374 ruminal que pode tanto reduzir a eficiência do animal, quanto impactar negativamente o  
375 ambiente (Norris et al. 2020). Sabe-se que, dietas com adequado ajuste de nutrientes podem  
376 promover melhor utilização do N advindo da alimentação.

377 Com a suplementação correta de proteína é possível otimizar o uso de N e assim, evitar  
378 perdas para o ambiente (Hristov et al. 2013). A concentração de amônia no rúmen é  
379 determinada, especialmente, pela fermentação de proteínas, pelas bactérias aminolíticas, que  
380 liberam grande quantidade de amônia (Van Der Walt 1993). Os taninos são reativos em contato  
381 com proteínas e carboidratos, formando complexos altamente fortes no ruminal (Patra e Saxena  
382 2010). Através da formação destes complexos, menor quantidade de N é degradada no rúmen,  
383 especialmente pela condição de pH entre 6 e 7 que o ambiente proporciona.

384 Esta concentração de N-amoniacoal pode variar conforme o tipo de tanino e a fonte de  
385 inclusão (natural ou extrato), ou seja, a inclusão de extrato de CT e HT em doses entre 11 e 100  
386 g/kg MS reduziu a produção de N-amoniacoal. Percebe-se que os CTs podem interagir com os  
387 diferentes nutrientes que compõem as dietas: dietas com proteína entre 101 e 200 g/kg e acima  
388 de 200g/kg MS possibilitaram uma redução em torno de 5% de N-amoniacoal no meio ruminal  
389 (Tabela 4), comparado a dietas com baixo teor de proteína (<10 g/kg MS). Os CT podem  
390 potencialmente promover melhorias na eficiência do uso de N, através da redução de proteólise  
391 e o maior aproveitamento de amônia, mas parece ser necessárias proteínas de valor nutricional  
392 elevado (Norris et al. 2020), por exemplo, com maiores proporções das frações B1 e de  
393 nitrogênio não proteico.

394 Resultados similares foram encontrados por Martello et al. (2020), ao fornecer a novilhos  
395 Nelore em confinamento uma dieta com um blend de taninos associado a níveis de ureia. Em  
396 contrapartida, Adejoro et al. (2020), avaliando os efeitos da substituição de ureia por nitrato  
397 com ou sem a suplementação de extrato de CT, não observaram efeito positivo que justificasse  
398 o seu uso, em uma dieta rica em proteína. A possibilidade de promover melhorias na eficiência  
399 do metabolismo de N pelo consumo de taninos foi confirmada em estudos que contemplam a  
400 passagem pós-ruminal. Norris et al. (2020) notaram que a rota de excreção de N pode ser  
401 modulada com a inclusão de CTs, direcionando este N para as fezes. Isto é justificável, porque,  
402 o N fecal é menos volátil que o urinário, por isso, poderia haver uma desaceleração ou até  
403 mesmo redução nas emissões de NH<sub>3</sub> e N<sub>2</sub>O, o que melhoraria o ciclo e fluxo de N nos sistemas  
404 biológicos terrestres (Patra e Saxena 2011).

405 A adição de altas concentrações totais de CT (extrato) reduziram o N-NH<sub>3</sub> (1.979 Mm/L  
406 no líquido ruminal), o que pode estar relacionado aos diferentes efeitos que os CTs exercem  
407 sobre os fluxos, perdas e absorção de aminoácidos no rúmen (Tedeschi et al. 2014). A  
408 quantidade de taninos totais na planta ou extrato dependem de diferentes aspectos, como a parte

409 da planta e a espécie (Hoyos-Martínez et al. 2019). Por isso, ao considerar a inclusão de taninos  
410 em dietas para bovinos, a extração deve ser considerada, já que o conteúdo pode variar com  
411 fatores sazonais e ambientais (Frutos et al. 2004), mas pesquisas em nutrição de ruminantes que  
412 contemplem todos estes fatores ainda são escassas. Além disso, o consumo de CT por  
413 ruminantes dá origem a relações complexas e duradouras com vários aspectos dos processos  
414 digestivos, toxicológicos, fisiológicos e morfológicos (Tedeschi et al. 2014), que  
415 provavelmente tornam a análise holística bastante complexa.

416 A análise de sensibilidade mostrou que apenas um estudo influenciou na mudança do MD  
417 para a concentração de N-NH<sub>3</sub>. Da mesma maneira que para a produção de SCFA o estudo de  
418 Hassanat e Benchaar (2012) reduziu o N-NH<sub>3</sub>, provavelmente por conter HT em doses mais  
419 elevadas (entre 20 e 200 g/kg de MS).

420

#### 421 Digestibilidade da MS

422 A inclusão de taninos, mesmo que em doses entre 1 e 2% da MS, pode causar efeitos  
423 adversos na DMD (Woodward et al. 2001). Diversos autores identificaram queda significativa  
424 na DMD, digestibilidade da matéria orgânica e de fibras (Frutos et al. 2004; McMahon et al.  
425 2000; Mueller-Harvey, 2006). A DMD é influenciada pelo manejo, tipo de alimento (volumoso,  
426 concentrado), tipo de animal e ambiente (Mertens 1994). Uma redução na DMD foi obtida  
427 quando o FDN da dieta foi superior a 601 g/kg de MS na inclusão de taninos na dieta. Logo,  
428 uma possível redução na DMD pode ser resultado da ação de enzimas celulolíticas, inibição de  
429 alguns grupamentos de bactéria ou, ainda, pela complexação entre taninos e componentes da  
430 dieta, como amido, carboidratos ou parede celular (Herremans et al. 2020). Os taninos, ao  
431 complexar com componentes da dieta, automaticamente reduzem o crescimento bacteriano,  
432 devido à falta de substrato para a atividade celular (McNabb et al. 1996), reduzindo a  
433 digestibilidade.



434 Quatro estudos influenciaram a mudança do MD na análise de sensibilidade para a DMD.  
435 Estudos de Jami et al. (2012) e Sharma et al. (2008) podem ter aumentado o MD possivelmente  
436 por alguma particularidade da dieta, visto que são estudos desenvolvidos no mesmo continente  
437 (Ásia). Já para o estudo de Chung et al. (2013) e Bouchard et al. (2013) o aumento e redução  
438 no MD, respectivamente, parece não ter similaridade entre continentes ou componentes da  
439 dieta.

440

#### 441 Produção de metano

442 O efeito da inclusão de taninos em doses de 11 a 100 g/kg MS na dieta de bovinos reduziu  
443 a produção de CH<sub>4</sub> na proporção de 0.489 g/d. Mudanças nas populações que produzem metano  
444 na presença de CTs dietéticos, indicam que há alterações na atividade e crescimento de  
445 microrganismos metanogênicos e, por isso, a inclusão de taninos pode ser considerada uma  
446 estratégia promissora para controlar metanógenos ruminais (Fagundes et al. 2020). Estudos *in*  
447 *vitro* demonstraram os efeitos dos taninos sobre as bactérias metanogênicas (Bhatta et al. 2009;  
448 Tan et al. 2011; Jayanegara, et al. 2015; Szczechowiak et al. 2016), entretanto, tais efeitos não  
449 foram testados suficientemente para predizer sua extensão (Mohammed et al. 2011;  
450 Szczechowiak et al. 2016).

451 Os efeitos dos taninos de forma isolada, parecem ser pouco relevantes se não analisados  
452 em um cenário macro, visando fatores intrínsecos aos taninos e àqueles ligados a base dietética.  
453 Segundo os nossos resultados, dietas com teores de FDN superiores a 601 g/kg da MS, na  
454 presença de taninos, aumentaram a produção de CH<sub>4</sub> a um nível de 1.42% g/d comparado a  
455 dietas com FDN inferiores a 200 g/kg da MS. Parece haver efeito adverso do uso de taninos em  
456 dietas cuja qualidade da fonte de fibra é menor. Sabe-se que os efeitos dos taninos sobre a  
457 microbiota ruminal são atribuídos a sua interferência na ligação da parede celular das bactérias,  
458 resultando em uma redução na digestibilidade de fibras (Patra e Saxena 2011). Quando o meio

459 ruminal está com maiores proporções de fibras grosseiras, os taninos impedem que a atividade  
460 de bactérias celulolíticas seja efetiva, o que pode não somente reduzir a digestibilidade, mas  
461 aumentar a produção de CO<sub>2</sub>, metano e calor (Bergman 1990).

462 Apesar do impacto da adição de taninos para reduzir a produção de gases de efeito estufa,  
463 especialmente CH<sub>4</sub> ser variável, não foi detectado este efeito sobre o tempo de permanência  
464 com os taninos, provavelmente pela duração de curto prazo dos experimentos (menos de 90  
465 dias de experimento). De acordo com Duval et al. (2016), o efeito é decorrente da quantidade,  
466 da qualidade e do tempo de permanência do tanino na dieta (Duval et al. 2016). Nesse sentido,  
467 a adição de baixas doses somadas a exposição prolongada a extratos de taninos podem ser  
468 necessárias para reduzir as emissões de CH<sub>4</sub>, além de reduzir efetivamente a produção de  
469 amônia, através das interações entre o tanino e a proteína no rúmen (Robbins et al. 1987; Powell  
470 et al. 2011). A longo prazo poderia haver adaptação dos micróbios ruminais a ação dos taninos,  
471 entretanto, Duval et al. (2016) testando taninos para vacas leiteiras, em doses inferiores a 2%  
472 de MS contrariam esta hipótese, pois os efeitos sobre a produção de CH<sub>4</sub> foram mais  
473 pronunciados ao final da experimentação (90 dias).

474 Na análise de sensibilidade, quatro estudos influenciaram a produção de metano, sendo  
475 que Ebert et al. (2017) e Krueger et al. (2010) aumentaram o MD, possivelmente por haver  
476 alguma interação entre os taninos e os componentes da dieta, pois ambos utilizaram milho para  
477 bovinos de corte. Como o milho é rico em amido, que por sua vez, combinados a compostos  
478 nitrogenados como a ureia, pode ocorrer modificação no padrão de fermentação, ocasionando  
479 um leve desequilíbrio na relação proteína-energia (Martello et al. 2020), que pode ser atenuado  
480 pela presença de taninos. A redução no MD encontrada nos estudos de Pinero-Vázquez et al  
481 (2018) e Yang et al. (2016) não possuem características semelhantes que possam justificar esta  
482 mudança.

483           Como já comentado, existem fatores que são determinantes para o benefício, malefício  
484 ou neutralidade do efeito da inclusão de taninos na fermentação ruminal. A análise isolada do  
485 fornecimento em dietas para bovinos prejudica a interpretação por não analisar fatores como a  
486 origem, estrutura, peso molecular e interação com componentes dietéticos. Neste estudo, há  
487 incontáveis espécies utilizadas como fonte de taninos (apêndice 2), o que acarreta diferentes  
488 respostas no processo de fermentação. Entretanto, segundo Patra e Saxena (2011), baixas doses  
489 tem potencial de reduzir processos ineficientes, como a produção de metano. A razão do uso de  
490 taninos para melhorar parâmetros ruminais é plausível por minimizar os efeitos adversos, não  
491 somente para o bovino, como também para o meio ambiente, devido a possibilidade de mitigar  
492 metano e excreção de amônia (Frutos et al. 2004), como evidenciaram nossos resultados.

493           Embora este estudo não tenha contemplado as excreções de N fecal e urinário, observa-  
494 se um benefício do uso de taninos para modificar o metabolismo de N em bovinos (Herremans  
495 et al. 2020), além da possibilidade de modular populações microbianas benéficas,  
496 especialmente quando há dietas de elevada qualidade nutricional. Com isso, dietas com taninos  
497 podem auxiliar na redução da produção de metano, por suprimir a atividade de comunidades  
498 metanogênicas e estimular o desenvolvimento de bactérias celulolíticas (Fagundes et al. 2020),  
499 desde que a fibra seja de elevada qualidade. Por esta razão, os efeitos da inclusão de taninos  
500 nas dietas de bovinos de corte e leite, como medida de modular a fermentação ruminal, é uma  
501 estratégia relevante para minimizar emissões de gases nocivos ao meio ambiente, assim como  
502 melhorar o aproveitamento de nutrientes para o bovino.

503

## 504 **Conclusão**

505           Foi constatado que os taninos afetam significativamente a concentração de N-NH<sub>3</sub>,  
506 SCFA, DMD e CH<sub>4</sub>. Os efeitos globais da inclusão de taninos parecem ser mais evidentes  
507 quando há dietas de alto valor nutricional, forragem ou concentrado, com efetividade na

508 redução da concentração de N-NH<sub>3</sub> e produção de CH<sub>4</sub>. Entretanto, as concentrações de SCFA  
509 e a digestibilidade da DM reduzem quando há aumento de doses. Futuras pesquisas devem  
510 considerar aspectos pós-ruminais, ajudando a melhor compreender se os efeitos refletem em  
511 maiores retenções de nutrientes e, conseqüentemente, em melhorias no desempenho.

512

### 513 **Declaração de interesse**

514 Os autores declaram não haver conflito de interesses.

515

### 516 **Agradecimentos**

517 Os autores agradecem o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal  
518 de Nível Superior (CAPES).

519

### 520 **Referências**

521 Aboagye IA and Beauchemin KA (2019). Potential of molecular weight and structure of tannins

522 to reduce methane emissions from ruminants: A Review. *Animals* 9, (11) 856.

523 <https://doi.org/10.3390/ani9110856>

524 Aboagye IA, Oba M, Castillo AR, Koenig KM, Iwaasa AD, Beauchemin KA (2018). Effects

525 of hydrolysable tannin with or without condensed tannin on methane emissions, nitrogen

526 use, and performance of beef cattle fed a high-forage diet. *Journal of animal science* 96,

527 (12) 5276-5286. <https://doi.org/10.1093/jas/sky352>

528 Aguerre MJ, Capozzolo MC, Lencioni P, Cabral C, Wattiaux MA (2016). Effect of quebracho-

529 chestnut tannin extracts at 2 dietary crude protein levels on performance, rumen

530 fermentation, and nitrogen partitioning in dairy cows. *Journal of dairy science* 99, (6) 4476-

531 4486. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10745>

- 532 Alves TP, Dall-Orsoletta AC and Ribeiro-Filho HMN (2017). The effects of supplementing  
533 *Acacia mearnsii* tannin extract on dairy cow dry matter intake, milk production, and  
534 methane emission in a tropical pasture. *Tropical animal health and production* 49, (8) 1663-  
535 1668.<https://doi.org/10.1007/s11250-017-1374-9>
- 536 Ávila SC, Kozloski GV, Orlandi T, Mezzomo MP, Stefanello S (2015). Impact of a tannin  
537 extract on digestibility, ruminal fermentation and duodenal flow of amino acids in steers  
538 fed maize silage and concentrate containing soybean meal or canola meal as protein source.  
539 *The Journal of Agricultural Science* 153, (5) 943-  
540 953.<https://doi.org/10.1017/S0021859615000064>
- 541 Azuhwi, B. N., Hertzberg, H., Arrigo, Y., Gutzwiller, A., Hess, H. D., Mueller-Harvey, I., ...  
542 Dohme-Meier, F. (2013). Investigation of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) cultivar  
543 differences on nitrogen balance and fecal egg count in artificially infected lambs. *Journal*  
544 *of Animal Science*, 91, 2343–2354. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5351>
- 545 Baah J, Ivan M, Hristov AN, Koenig KM, Rode LM, Mcallister TA. 2007. Effects of potential  
546 dietary antiprotozoal supplements on rumen fermentation and digestibility in heifers.  
547 *Animal Feed Science and Technology* 137, 126–137.
- 548 Baert N, Kim J, Karonen M, Salminen JP (2017). Inter-population and inter-organ distribution  
549 of the main polyphenolic compounds of *Epilobium angustifolium*. *Phytochemistry* 134:54–  
550 63. doi:10.1016/j.phytochem.2016.11.003
- 551 Beauchemin KA, McGinn SM, Martinez TF and McAllister TA (2007). Use of condensed  
552 tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. *Journal of*  
553 *Animal Science* 85, 1990–1996.<https://doi.org/10.2527/jas.2006-686>
- 554 Borenstein M, Hedges LV, Higgins JPT and Rothstein HR (2009) *Introduction to meta-*  
555 *analysis*. The Atrium, Chichester, UK. John Wiley and Sons, Ltd.

- 556 Bouchard, K., Wittenberg, K. M., Legesse, G., Krause, D. O., Khafipour, E., Buckley, K. E., &  
557 Ominski, K. H. (2015). Comparison of feed intake, body weight gain, enteric methane  
558 emission and relative abundance of rumen microbes in steers fed sainfoin and lucerne  
559 silages under western Canadian conditions. *Grass and Forage Science*, 70(1), 116-129.
- 560 Broderick GA, Grabber JH, Muck RE, Hymes-Fecht UC (2017). Replacing alfalfa silage with  
561 tannin-containing birdsfoot trefoil silage in total mixed rations for lactating dairy cows.  
562 *Journal of Dairy Science* 100, (5) 3548-3562.
- 563 Brutti DD, De Paula NF, Zervoudakis JT, Cabral LS, Fonseca MA, Macedo BG, Lima LR  
564 (2019). Effects of tannins and monensin on the modulation of in vitro ruminal fermentation  
565 and ammonia production of nitrogen-fertilized and non-fertilized *Urochloa brizantha* cv.  
566 Marandu. *Grassland Science*.1-8. DOI: 10.1111/grs.12221
- 567 Callaway, T. R., Edrington, T. S., Rychlik, J. L., Genovese, K. J., Poole, T. L., Jung, Y. S,  
568 Nisbet, D. J. (2003). Ionophores: Their use as ruminant growth promotants and impact on  
569 food safety. *Current Issues Intestinal Microbiology*, 4, 43–51.
- 570 Canozzi MEA, Mederos A, Manteca X, Turner S, McManus C, Zago D and Barcellos JOJ  
571 (2017) A meta-analysis of cortisol concentration, vocalization, and average daily gain  
572 associated with castration in beef cattle. *Research in Veterinary Science* 114, 430-443.
- 573 Carulla JE, Kreuzer M, Machmuller A, Hess HD (2005). Supplementation of *Acacia mearnsii*  
574 tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Australian*  
575 *Journal of Agricultural Research*, 56, 961–970.
- 576 Castro-Montoya, J., Westreicher-Kristen, E., Henke, A., Diaby, M., Susenbeth, A., &  
577 Dickhoefer, U. (2018). In vitro microbial protein synthesis, ruminal degradation and post-  
578 ruminal digestibility of crude protein of dairy rations containing Quebracho tannin  
579 extract. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(1), e77-e86.

- 580 Cherif, C., Hassanat, F., Claveau, S., Girard, J., Gervais, R., & Benchaar, C. (2018). Faba bean  
581 (*Vicia faba*) inclusion in dairy cow diets: effect on nutrient digestion, rumen fermentation,  
582 nitrogen utilization, methane production, and milk performance. *Journal of dairy science*,  
583 101(10), 8916-8928.
- 584 Christensen, R. G., Yang, S. Y., Eun, J. S., Young, A. J., Hall, J. O. & MacAdam, J. W. (2015).  
585 Effects of feeding birdsfoot trefoil hay on neutral detergent fiber digestion, nitrogen  
586 utilization efficiency, and lactational performance by dairy cows. *Journal of Dairy Science*,  
587 98(11), 7982-7992.
- 588 Chung, Y. H., Mc Geough, E. J., Acharya, S., McAllister, T. A., McGinn, S. M., Harstad, O.  
589 M., & Beauchemin, K. A. (2013). Enteric methane emission, diet digestibility, and nitrogen  
590 excretion from beef heifers fed sainfoin or alfalfa. *Journal of Animal Science*, 91(10),  
591 4861-4874.
- 592 Cieslak A, Zmora P, Pers-Kamczyc E, Szumacher-Strabel M (2012). Effects of tannins source  
593 (*Vaccinium vitis idaea* L.) on rumen microbial fermentation *in vivo*. *Animal feed science*  
594 *and technology* 176, (1-4) 102-06.<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.012>
- 595 DerSimonian R and Laird N (1986) Meta-analysis in clinical trials. *Controlled Clinical Trials*  
596 7, 177-188.
- 597 Dey A, Dutta N, Sharma K, Pattanaik AK (2009). Response of dairy cows to dietary  
598 supplementation of condensed tannins through *Ficus infectoria* leaves. *Indian Journal of*  
599 *Animal Sciences* 79, (1) 58.
- 600 Dey A, and De PS (2014). Influence of condensed tannins from *Ficus bengalensis* leaves on  
601 feed utilization, milk production and antioxidant status of crossbred cows. *Asian-*  
602 *Australasian journal of animal sciences* 27, (3) 342.<https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13295>

- 603 Dickhoefer, U., Ahnert, S. & Susenbeth, A. (2016). Effects of quebracho tannin extract on  
604 rumen fermentation and yield and composition of microbial mass in heifers. *Journal of*  
605 *animal science*, 94(4), 1561-1575.
- 606 Dschaak CM, Williams CM, Holt MS, Eun JS, Young AJ, Min BR. (2011) Effects of  
607 supplementing condensed tannin extract on intake, digestion, ruminal fermentation, and  
608 milk production of lactating dairy cows. *Journal Dairy Science*; 94: 2508e19.
- 609 Duval S and Tweedie R (2000) Trim and fill: a simple funnel-plot-based method of testing and  
610 adjusting for publication bias in meta-analysis. *Biometrics* 56, 455–463.
- 611 Egger M, Smith GD and Altman DG (2001) *Systematic reviews in health care*. London, UK:  
612 MBJ Publishing Group.
- 613 Ekambaram, S. P., S. S. Perumal, and A. Balakrishnan (2016). Scope of hydrolysable tannins  
614 as possible antimicrobial agent. *Phytother. Res.* 30:1035-1045.
- 615 Fagundes GM, Modesto EC, Fonseca CEM, Lima HRP, Muir JP (2014). Intake, digestibility  
616 and milk yield in goats fed *Flemingia macrophylla* with or without polyethylene glycol.  
617 *Small Ruminant Research.*, 116 (2014), pp. 88-93.
- 618 Fagundes GM, Benetel G, Welter KC, Melo FA, Muir JP, Carriero MM, Souza RLM, Meo-  
619 Filho P, Frighetto RTS, Berndt A, Bueno ICS (2020). Tannin as a natural rumen modifier  
620 to control methanogenesis in beef cattle in tropical systems: Friend or foe to biogas energy  
621 production? *Research in Veterinary Science*. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.05.010>
- 622 Grainger, C., Clarke, T., Auldist, M. J., Beauchemin, K. A., McGinn, S. M., Waghorn, G. C.,  
623 & Eckard, R.J. (2009). Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce  
624 methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. *Canadian Journal of*  
625 *Animal Science*, 89(2), 241-251.
- 626 Grosse Brinkhaus, A., Bee, G., Silacci, P., Kreuzer, M. & Dohme-Meier, F. (2016). Effect of  
627 exchanging *Onobrychis viciifolia* and *Lotus corniculatus* for *Medicago sativa* on ruminal



- 628 fermentation and nitrogen turnover in dairy cows. *Journal of dairy Science*, 99(6), 4384-  
629 4397.
- 630 Hatano T, Kira R, Yoshizaki M, Okuda (1986). Seasonal changes in the tannins of *Liquidambar*  
631 *formosana* reflecting their biogenesis. *Phytochemistry* 25:2787–2789. doi:10.1016/S0031-  
632 9422(00)83742–5
- 633 Hassanat, F. & Benchaar, C. (2013). Assessment of the effect of condensed (acacia and  
634 quebracho) and hydrolysable (chestnut and valonea) tannins on rumen fermentation and  
635 methane production in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 332-  
636 339.
- 637 Herremans S, Vanwindekens F, Decruyenaere V, Beckers Y, Froidmont E. (2020). Effect of  
638 dietary tannins on milk yield and composition, nitrogen partitioning and nitrogen use  
639 efficiency of lactating dairy cows: A meta-analysis. *Journal of Animal Physiology and*  
640 *Animal Nutrition*. 0;00:1–10. <https://doi.org/10.1111/jpn.13341>
- 641 Higgins, J. P. T., and S. Green. 2011. *Cochrane handbook for systematic review of interventions*  
642 version 5.0.2 (updated September 2014). The Cochrane Collaboration. [www.cochrane-](http://www.cochrane-handbook.org)  
643 [handbook.org](http://www.cochrane-handbook.org) Accessed August 8, 2018.
- 644 Higgins J., P., T., Thompson, S., G, Deeks, J., J and Altman DG (2003) Measuring  
645 inconsistency in meta-analysis. *BMJ: British Medical Journal* 327, 557-560.
- 646 Hoste, H., Jackson, F., Athanasiadou, S., Thamsborg, S. M. & Hoskin, S. O. (2006). The effects  
647 of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends in Parasitology*, 22, 253–  
648 261. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.04.004>
- 649 Ishlak, A, Günal, M., & AbuGhazaleh, AA. (2015). The effects of cinnamaldehyde, monensin  
650 and quebracho condensed tannin on rumen fermentation, biohydrogenation and bacteria in  
651 continuous culture system. *Animal Feed Science and Technology*, 207, 31-40.

- 652 Jami, E., Shabtay, A., Nikbachat, M., Yosef, E., Miron, J., & Mizrahi, I. (2012). Effects of  
653 adding a concentrated pomegranate-residue extract to the ration of lactating cows on *in*  
654 *vivo* digestibility and profile of rumen bacterial population. *Journal of Dairy Science*,  
655 95(10), 5996-6005.
- 656 Jayanegara, A., Goel, G., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2015). Divergence between purified  
657 hydrolysable and condensed tannin effects on methane emission, rumen fermentation and  
658 microbial population *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 209, 60–68.
- 659 Jolazadeh, A. R., Dehghan-Banadaky, M., & Rezayazdi, K. (2015). Effects of soybean meal  
660 treated with tannins extracted from pistachio hulls on performance, ruminal fermentation,  
661 blood metabolites and nutrient digestion of Holstein bulls. *Animal Feed Science and*  
662 *Technology*, 203, 33-40.
- 663 Jones, W.T. and J.L. Mangan. (1977). Complexes of the condensed tannins of sainfoin  
664 (*Onobrychis viciifolia* Scop.) with Fraction 1 leaf protein and with submaxillary  
665 mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. *J. Sci. Food Agric.* 28:126–  
666 136. doi:10.1002/jsfa.2740280204
- 667 Kang, S., Wanapat, M. & Cherdthorng, A. (2014). Effect of banana flower powder  
668 supplementation as a rumen buffer on rumen fermentation efficiency and nutrient  
669 digestibility in dairy steers fed a high-concentrate diet. *Animal Feed Science and*  
670 *Technology*, 196, 32-41.
- 671 Kondo, M., Hirano, Y., Ikai, N., Kita, K., Jayanegara, A., & Yokota, H. (2014). Assessment of  
672 anti-nutritive activity of tannins in tea byproducts based on *in vitro* rumen fermentation.  
673 *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27, 1571–1576.  
674 <https://doi.org/10.5713/ajas.2014.14204>
- 675 Krueger, W. K., H. Gutierrez-Banuelos, G. E. Carstens, B. R. Min, W. E. Pinchak, R. R. Gomez,  
676 R. C. Anderson, N. A. Krueger, and T. D. A. Forbes. (2010). Effects of dietary tannin

- 677 source on performance, feed efficiency, ruminal fermentation, and carcass and non-carcass  
678 traits in steers fed a high-grain diet. *Anim. Feed Sci. Technol.* 159:1–9.  
679 doi:10.1016/j.anifeedsci.2010.05.003
- 680 Makkar HPS (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and  
681 strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant.*  
682 *Research.* 49, 241–256. [http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488\(03\)00142-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00142-1).
- 683 McMahon, L. R., McAllister, T. A., Berg, B. P., Majak, W., Acharya, S. N., Popp, J. D., ...  
684 Cheng, K.-J. (2000). A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal  
685 fermentation and bloat in grazing cattle. *Canadian Journal of Plant Science*, 80(3), 469–  
686 485. <https://doi.org/10.4141/P99-050>
- 687 McSweeney CSB, Palmer B, McNeill DM, Krause DO (2001). Microbial interactions with  
688 tannins: Nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology.*  
689 91:83–93. doi:10.1016/S0377-8401(01)00232-2
- 690 Mederos A, Waddell L, Sánchez J, Kelton D, Peregrine AS, Menzies P, Vanleeuwen J and  
691 Rajic A (2012) A systematic review-meta-analysis of primary research investigating the  
692 effect of selected alternative treatments on gastrointestinal nematodes in sheep under field  
693 conditions. *Preventive Veterinary Medicine* 104, 1-14.
- 694 Mertens, D.R.; Broderick, G.A.; Simons, R. Efficacy of carbohydrate sources for improving  
695 utilization of N in alfalfa silage. *Journal of Dairy Science*, v.77, p.240, 1994.
- 696 Mezzomo, R., Paulino, P. V. R., Detmann, E., Valadares Filho, S. C., Paulino, M. F., Monnerat,  
697 J. P. I. S., Moura, L. S. (2011). Influence of condensed tannin on intake, digestibility, and  
698 efficiency of protein utilization in beef steers fed high concentrate diet. *Livestock Science*,  
699 141(1), 1-11.
- 700 Min, B. R., Barry, T. N., Atwood, G. T., & McNabb, W. C. (2003). The effect of condensed  
701 tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: A review.

- 702 Animal Feed Science and Technology, 106, 3–19. <https://doi.org/10.1016/S0377->  
703 8401(03)00041-5
- 704 Moher D, Liberati A, Tetzlaff J and Altman DG (2009) Preferred reporting items for systematic  
705 reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Annals of internal medicine*, 151, 264-  
706 269.
- 707 Norris AB, Crossland WL, Tedeschi LO, Foster JL, Muir JP, Pinchak WE, Fonseca MA (2020).  
708 Inclusion of Quebracho tannin extract in a high-roughage cattle diet alters digestibility,  
709 nitrogen balance, and energy partitioning. *Journal of Animal Science*, 98(3), skaa047.
- 710 Nsahlai IV, Fon FN, Basha NAD (2011). The effect of tannin with and without polyethylene  
711 glycol on in vitro gas production and microbial enzyme activity. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 41.
- 712 Patra, A.K., and J. Saxena. 2010. A new perspective on the use of plant secondary metabolites  
713 to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry* 71:1198–1222.  
714 doi:10.1016/j.phyto-chem.2010.05.010
- 715 Patra, A. K., and J. Saxena (2011). Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism  
716 and ruminant nutrition. *Journal of the Science and Food Agriculture*. 91:24–37.  
717 doi:10.1002/jsfa.4152
- 718 Piñeiro-Vázquez, A. T., Canul-Solis, J. R., Jiménez-Ferrer, G. O., Alayón-Gamboa, J. A.,  
719 Chay-Canul, A. J., Ayala-Burgos, A. J. & Ku-Vera, J. C. (2018). Effect of condensed  
720 tannins from *Leucaena leucocephala* on rumen fermentation, methane production and  
721 population of rumen protozoa in heifers fed low-quality forage. *Asian-Australasian journal*  
722 *of animal sciences*, 31(11), 1738.
- 723 Reed JD (1995). Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes.  
724 *J. Anim. Sci.* 73:1516– 1528. doi:10.2527/1995.7351516x

- 725 Rira M, Morgavi DP, Genestoux L, Djibiri Sehkiri I, Doreau M (2019). Methanogenic potential  
726 of tropical feeds rich in hydrolyzable tannins. *Journal of Animal Science*. 97:2700–  
727 2710doi: 10.1093/jas/skz199
- 728 Shakeri, P., Riasi, A., & Alikhani, M. (2014). Effects of long period feeding pistachio by-  
729 product silage on chewing activity, nutrient digestibility and ruminal fermentation  
730 parameters of Holstein male calves. *Animal*, 8(11), 1826-1831.
- 731 Sharma, R. K., Singh, B., & Sahoo, A. (2008). Exploring feeding value of oak (*Quercus incana*)  
732 leaves: Nutrient intake and utilization in calves. *Livestock Science*, 118(1-2), 157-165.
- 733 Solomon-Wisdom GO, Shittu GA (2010). In vitro antimicrobial and phytochemical activities  
734 of *Acacia nilotica* leaf extract. *J. Med. Plant Res*. 4:1232–1234. doi:10.5897/JMPR09.136
- 735 Verheyden-Tixier, H. and P. Duncan. (2000). Selection for small amounts of hydrolysable  
736 tannins by a concentrate-selecting mammalian herbivore. *J. Chem. Ecol*. 26:351-358
- 737 Yang, K., Wei, C., Zhao, G. Y., Xu, Z. W., & Lin, S. X. (2017). Effects of dietary  
738 supplementing tannic acid in the ration of beef cattle on rumen fermentation, methane  
739 emission, microbial flora and nutrient digestibility. *Journal of Animal Physiology and*  
740 *Animal Nutrition*, 101(2), 302-310.
- 741 Waghorn GC and McNabb WC (2003). Consequences of plant phenolic compounds for  
742 productivity and health of ruminants. *Proceedings of the Nutrition Society* 62, 383-392.
- 743
- 744

745 **Apêndice 1.** Risco de viés (classificado como baixo, pouco claro e alto) dos 27 estudos incluídos na meta-análise de tanino na fermentação ruminal  
746 em bovinos de corte e leite

Referência	Resultado <sup>1</sup>	Geração de sequência	Viés de seleção		Viés de execução	Detecção de viés	Viés de atrito	Viés de relatórios
			Ocultação de alocação	Vinculaçã de pessoal	Cegamento da avaliação de resultados	Dados de resultados incompletos	Relatório de resultado seletivo	
Aguerre et al. (2016)	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; DMD	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Alves et al. (2015)	CH <sub>4</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Ávila et al. (2015)	DMD	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Beauchamin et al. (2007)	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; DMD; CH <sub>4</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Bouchard et al. (2013)	DMD; CH <sub>4</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Castro-Montoya et al. (2018)	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Cherif et al. (2018)	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Christensen et al. (2015)	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Cieslak et al. (2012)	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; DMD; CH <sub>4</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Chung et al. (2013)	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; CH <sub>4</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Dey et al. (2009)	DMD	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Dey and De (2014)	DMD	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Dickhoefer et al. (2016)	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Ebert et al. (2017)	CH <sub>4</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Grainger et al. (2009)	CH <sub>4</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Grosse Brinkhaus et al. (2016)	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Hassanat and Benchaar (2012)	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Ischak et al. (2015)	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; DMD;	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Jami et al. (2012)	DMD	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Jolazadeh et al. (2015)	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Kang et al. (2014)	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro
Krueger et al. (2010)	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; CH <sub>4</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Baixo	Pouco claro

Mezzomo et al. (2011)	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; DMD	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Pouco claro
Piñero-Vázquez et al. (2018)	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; CH <sub>4</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Pouco claro
Shakeri et al. (2013)	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Pouco claro
Sharma et al. (2008)	DMD	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Pouco claro
Yang et al. (2016)	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; CH <sub>4</sub>	Baixo	Pouco claro	Pouco claro	Baixo	Baixo	Pouco claro

747 <sup>1</sup>SCFA: ácidos graxos de cadeia curta; N-NH<sub>3</sub>: nitrogênio amoniacal; DMD: digestibilidade da matéria seca; CH<sub>4</sub>: metano

748

749

750 **Apêndice 2.** Resumo descritivo de cada estudo relevante incluído nesta MA e meta-regressão (27)

Referência	País	N (contole ou tratado)	Resultado <sup>1</sup>	Fonte de tanino na planta/extrato	Tipo de tanino <sup>2</sup>	Dose <sup>3</sup>	Base da dieta	Tipo de bovino
Aguerre et al. (2016)	Estados Unidos	12	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; DMD	Castanha e Quebracho	Blend	4.5; 9.0; 18	Silagem de alfafa; silagem de milho e caroço de algodão	Vacas -leite
Alves et al. (2015)	Brasil	6	CH <sub>4</sub>	Acacia mearnsii	CT	132.8	Painço de pasto; milho moído e farelo de soja	Novilhos holandes - leite
Ávila et al. (2015)	Brasil	4	DMD	Acacia mearnsii	CT	33.9	Silagem de milho; Farinha de soja, farinha de canola; farelo de trigo.	Novilhos holandes - leite
Beauchamin et al. (2007)	Canadá	12	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; DMD; CH <sub>4</sub>	Quebracho	CT	10; 20	Silagem de cevada; Grão de Rolo de cevada.	Novilhas corte
Bouchard et al. (2013)	Canadá	20	DMD; CH <sub>4</sub>	Sainfoin	CT	12.1	Silagem	Novilhos corte
Castro-Montoya et al. (2018)	Alemanha	3	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Quebracho - Schinopsis lorentzii	CT	15; 30	Silagem de capim; Silagem de milho; Colza extrudada; Mistura de concentrado.	Novilhas corte
Cherif et al. (2018)	Canadá	3	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Vicia Faba	CT	4.2	Silagem de alfafa e milho; Milho em grão moído; Refeição de grãos de soja	Vacas – leite
Christensen et al. (2015)	Estados Unidos	9	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Feno de Birdsfoot trefoil	CT	3.8	Feno de alfafa; Feno de cornichão; Silagem de milho; Grãos de milho em flocos; Semente de algodão, inteira;	Vacas – leite



								Farelo de Soja; DDGS	
Cieslak et al. (2012)	Polônia	4	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; DMD; CH <sub>4</sub>	Vaccinium vitis Idaea	CT	0.08; 2.72; 1.36; 2	Silagem de milho; Silagem de lucerne; Feno do prado; Grão de trigo, moído; Grão de milho moído; Farinha de colza processada por expulsão	Vacas – leite	
Chung et al. (2013)	Canadá	4	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; CH <sub>4</sub>	Sainfoin	CT	24.5; 6.6; 5.5	Alfafa ou Sainfoin	Novilhas corte	
Dey et al. (2009)	Índia	12	DMD	Ficus infectoria	CT	15	Aveia verde; milho; amendoim sem óleo	Vacas – leite	
Dey and De (2014)	Índia	9	DMD	Ficus bengalensis	CT	15	Farelo de arroz; Palha de arroz	Vacas – duplo propósito	
Dickhoefer et al. (2016)	Alemanha	12	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Quebracho	CT	10	Feno de capim (Lolium perenne); Cevada; Trigo; Farinha de colza; Polpa de beterraba	Novilhas – duplo propósito	
Ebert et al. (2017)	Estados Unidos	9	CH <sub>4</sub>	Quebracho	CT	5; 10	Milho em flocos a vapor; Grãos de destilaria úmida de milho; Solúveis de destiladores condensados; Talos de sorgo; Calcário; Graxa amarela	Novilhos – corte	
Grainger et al. (2009)	Austrália	5	CH <sub>4</sub>	Acacia Mearnsii	CT	163; 266	Híbridos de azevém	Vacas – leite	
Grosse Brinkhaus et al. (2016)	Suíça	9	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Sainfoin; Birdsfoot trefoil	CT	223; 30.3	Feno de capim; Silagem de milho; Linhaça extrudada;	Vacas – leite	

							Cevada-milho-trigo	
Hassanat and Benchaar (2012)	Canadá	4	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Acácia; Castanha; Quebracho; Valonea	CT; HT	20; 50; 100; 150; 200	Mistura a base de soja	Vacas
Ischak et al. (2015)	Estados Unidos	4	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; DMD;	Quebracho	CT	100	Feno de capim; Farelo de soja; Milho moído; Casca de soja; Óleo de milho	Vacas
Jami et al. (2012)	Israel	10	DMD	Casca de romã	Blend	10; 20;40	Silagem de trigo; Feno de aveia; Silagem de milho;Feno de trevo; Casca de soja; Farelo de Soja; Milho moído, cevada, grão de trigo; Glúten de milho; Sementes de algodão inteiras; Farelo de canola	Vacas – leite
Jolazadeh et al. (2015)	Irã	7	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Casca de pistache	Blend	50; 100; 150	Feno de alfafa; Silagem de milho; Milho, cevada, trigo moído; Farelo de soja; Farelo de arroz	Bezerros não castrados – corte
Kang et al. (2014)	Tailândia	4	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Pó de flor de banana.	CT	0; 10; 20; 30	Chip de mandioca; Farelo de arroz; Farinha de coco; Farinha de palmiste, Uréia	Novilhos – leite
Krueger et al. (2010)	Estados Unidos	12	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; CH <sub>4</sub>	Castanha (Castanea sativa Mill); Pó de Mimosa	HT and CT	0; 14.9	Milho; Feno de sorgo; Cascas de sementes de algodão; Farinha	Novilhos - corte

				(Acacia mearnsii)			de algodão; Calcário	
Mezzomo et al. (2011)	Brasil	4	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; DMD	Quebracho	CT	0; 4	Bagaço da cana-de-açúcar; Grãos de milho quebrados; Farelo de Soja; Ureia; Carvão de algodão	Novilhos - corte
Piñero-Vázquez et al. (2018)	México	5	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; CH <sub>4</sub>	Leucaena leucocephala	CT	0; 20; 40; 60; 80	Forragem fresca do Taiwan (Pennisetum purpureum)	Novilhas - corte
Shakeri et al. (2013)	Irã	6	SCFA; N-NH <sub>3</sub>	Silagem de subproduto do pistache	Blend	0; 6; 12; 18	Silagem de milho; Alfafa; Grão de cevada (moído); Grão de milho (moído); Farinha de algodão; Farelo de trigo	Bezerros - corte
Sharma et al. (2008)	Índia	5	DMD	Carvalho (Quercus incana)	CT	33.4	Palha de trigo; Milho moído; Amendoim sem óleo; Farelo de arroz sem óleo; Casca de arroz; Melaço	Bezerros - corte
Yang et al. (2016)	China	16	SCFA; N-NH <sub>3</sub> ; CH <sub>4</sub>	Comercial ácido tânico	HT	0; 6.5; 13.0; 26.0	Silagem de milho; Milho; Farinha de glúten de milho; Farelo de Soja; Farelo de trigo	Novilhos - corte

751 <sup>1</sup>SCFA: ácidos graxos de cadeia curta; N-NH<sub>3</sub>: nitrogênio amoniacal; DMD: digestibilidade da matéria seca; CH<sub>4</sub>: produção de metano; <sup>2</sup>CT:  
752 tanino condensado; HT: tanino hidrolisado; Blend: CT + HT; <sup>3</sup>Dose: g/kg MS

**Apêndice 3.** Características descritivas das 27 publicações, que relatam 172 estudos incluídos na meta-análise sobre a nutrição com taninos de carne e gado de leite e seus efeitos sobre SCFA, N-NH<sub>3</sub>, DMD and CH<sub>4</sub>

Variable	Categorias	Número de publicações
Ano de publicação	1990-2010	7
	2010-2018	20
Continente	Europa	4
	Oceania	1
	América do Norte	12
	América do Sul	2
	Ásia	8
Fonte de tanino	Extrato	17
	Tanino naturalmente na planta	10
Tipo de tanino	CT	20
	HT	3
	Blend	4
	Não reportado	1
Concentração total de tanino na fonte (g/kg)	<100	10
	101-200	2
	201-300	1
	301-400	0
	401-500	0
	>501	7
	Não reportado	8
Dose de tanino na dieta (g/kg)	<10	12
	11 – 100	20
	101 – 200	3
	201 – 300	1
	301 – 400	2
	>400	3
Sistema de produção	Pasto	1

	Confinamento	22
	Semi-confinado	1
	Não reportado	4
Tipo de bovino	Corte	16
	Leite	9
	Duplo propósito	2
Gênero	Fêmea	14
	Macho	13
	Misto	0
Raça	<i>Bos taurus</i>	13
	<i>Bos indicus</i>	3
	Cruzados	11
Fase de lactação (dias)	0 – 50	3
	51 – 100	3
	101 – 150	0
	>151	0
	Not reported	3
Categoria vacas leite	Primíparas	0
	Múltiparas	6
	Não reportado	3
(%) Forragem na dieta	0 – 20	1
	21 – 40	5
	41 – 60	9
	61 – 80	2
	>80	5
	Não reportado	5
Fibra em detergente neutro (FDN - g/kg)	0 – 200	2
	201 – 400	11
	401 – 600	7
	>601	6
	Não reportado	2
Proteína bruta (g/kg)	0 – 100	5

Energia <sup>3</sup>	101 – 200	16
	>200	2
	Não reportado	6
	Baixa	0
	Média	3
	Alta	14
	Não reportado	10

---

<sup>1</sup>SCFA: ácidos graxos de cadeia curta; N-NH<sub>3</sub>: nitrogênio amoniacal; DMD: digestibilidade da matéria seca; CH<sub>4</sub>: produção de metano; <sup>2</sup>CT: tanino condensado; HT: tanino hidrolisado; Blend: CT + HT; <sup>3</sup> Energia da dieta: Baixa: não atendeu às necessidades nutricionais; Média: atendeu às necessidades nutricionais; Alta: a dieta tinha energia acima das necessidades (dados obtidos manualmente, comparando as informações dos animais conforme e as exigências para cada segundo NRC, 2000; ou NRC, 2001).

## **CAPÍTULO IV**

## Considerações finais

Os taninos são compostos complexos, naturais, encontrados em diversas plantas do planeta. O seu potencial vem sendo mais testado em bovinos nos últimos 15 anos. Entretanto, há dificuldades para investigar as peculiaridades dos taninos e seus efeitos em dietas para bovinos. A variabilidade na estrutura química e molecular, torna difícil a compreensão e extensão de benefícios, malefícios ou inatividade dos taninos, quando adicionados às dietas de bovinos de corte e leite.

Ainda assim, os melhores resultados para a razão de sua adição em dietas de bovinos estão relacionados às modificações nos padrões de fermentação ruminal, sobretudo sobre a concentração de nitrogênio amoniacal no líquido ruminal. Entretanto, em situações em que a proteína é limitante, o uso de taninos pode ser inadequado, visto que fundamentou a redução na concentração de N-amoniacal nas análises aplicadas neste estudo. Por outro lado, onde a proteína é abundante e a fibra não é limitante e de boa qualidade, maiores são as possibilidades de formação do complexo tanino-proteína, o que pode viabilizar maior aporte de aminoácidos ao intestino delgado, devido a redução da degradação desta proteína no rúmen.

Dessa forma, o uso de taninos nas dietas de bovinos de corte e leite é mais indicado em sistemas que permitam intensificação, com adequado aporte de proteína e fibra de boa qualidade. Enquanto em sistemas que não permitam tal intensificação a adição de taninos a dietas trás poucos benefícios, ou até mesmo efeitos irrelevantes. Além disso, quando o único objetivo do uso for o aumento de parâmetros produtivos, como ganho de peso (bovinos de corte) e produção de leite (bovinos de leite) os taninos não são indicados, visto que não traz aumentos significativos, contudo benefícios indiretos como a manipulação da microbiota ruminal e redução de excreção de potenciais poluentes para o ambiente, são premissas relevantes para a inclusão de taninos na dieta de bovinos.

Uma possível limitação deste estudo é que a extração de dados foi pré-determinada para que somente os dados que foram apresentados nos artigos fossem coletados, não sendo calculado e estimado qualquer desfecho de interesse. No entanto, esta questão não desqualifica a relevância dos resultados encontrados, pois a grande relevância em modificar parâmetros ruminais corrobora com estudos mais recentes da literatura. Além deste, uma possível limitação, foi devido a categorização



das doses, no entanto, ressalta-se que havia uma grande variabilidade destas nos estudos, o que dificultou incluir com exatidão a dose em suma.

A revisão sistemática e meta-análise não teve o objetivo de indicar um melhor tipo, fonte ou dose de tanino, mas sim de contemplar estes fatores como possíveis moduladores de alterações nos resultados de interesse. Entretanto, em relação a estas variáveis, este estudo demonstrou que de maneira geral, extratos de uma mistura de taninos (blend) em doses de até 100 g/kg de MS parecem se ajustar melhor a prováveis benefícios na produção e sobretudo em parâmetros ruminais. Os estudos com taninos e seus efeitos na alimentação de bovinos permitem esclarecimentos acerca de especulações sobre benefícios ou malefícios. Essas suposições muitas vezes estão mais relacionadas com as interações entre as características do tanino e tipos dietéticos, que propriamente do efeito ou não do composto. Por fim, o conhecimento sobre detalhes da fonte, concentração e estrutura do tanino que se inclui na dieta de bovinos deve ser levado em consideração em estudos futuros para que efeitos benéficos sejam majoritários.

## REFERÊNCIAS

- ACAMOVIC, T.; BROOKER, J. D. Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. **Proceedings of the Nutrition Society**, Washington, DC, v. 64, n. 3, p. 403-412, 2005.
- AGUERRE, M. J. *et al.* Effect of quebracho-chestnut tannin extracts at 2 dietary crude protein levels on performance, rumen fermentation, and nitrogen partitioning in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 99, n. 6, p. 4476-4486, 2016.
- AGUERRE, M. J. *et al.* Effects of feeding a quebracho–chestnut tannin extract on lactating cow performance and nitrogen utilization efficiency. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 103, n. 3, p. 2264-2271, 2020.
- AHNERT, S. *et al.* Influence of ruminal Quebracho tannin extract infusion on apparent nutrient digestibility, nitrogen balance, and urinary purine derivatives excretion in heifers. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 177, p. 63–70, 2015.
- BAKER, S. K. Rumen methanogens, and inhibition of methanogenesis. **Australian Journal of Agricultural Research**, East Melbourne, v. 50, n. 8, p. 1293-1298, 1999.
- BARAJAS, R. *et al.* Condensed tannins supplementation on feedlot performance of growing bulls. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, [art.] 711, 2010. Supl. 2.
- BARRY, T. N. Condensed tannins: their role in ruminant protein and carbohydrate digestion and possible effects upon the rumen ecosystem. *In*: NOLAN, J. V.; LENG, R. A.;

- DEMEYER, D. I. (ed.). **The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion**. Armidale: Penambul Books, 1989. p. 153–169.
- BARRY, T. N.; McNABB, W. C. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v. 81, n. 4, p. 263–272, 1999.
- BATE-SMITH, E. C.; SWAIN, T. Flavonoid compounds. *In*: FLORI, M.; MASON, H. S. (ed.). **Comparative biochemistry**. New York: Academic Press, 1962. p. 755–809.
- BEELEN, P. M. G. *et al.* Influence of condensed tannins from Brazilian semiarid legumes on ruminal degradability, microbial colonization and ruminal enzymatic activity in Saanen goats. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 61, n. 1, p. 35-44, 2006.
- BERGEN, W, G.; BATES, D. B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 58, n. 6, p. 1465-1483, 1984.
- BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 2011. 616 p.
- BHATTA, R. *et al.* Effect of polyethylene glycol-6000 on nutrient intake, digestion and growth of kids browsing *Prosopis cineraria*. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 101, p. 45–54, 2002.
- BHATTA, R.; KRISHNAMOORTHY, U.; MOHAMMED, F. Effect of tamarind (*Tamarindus indica*) seed husk tannins on *in vitro* rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 90, p. 143–152, 2001.
- BODAS, R. *et al.* Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 176, n. 1/4, p. 78-93, 2012.
- BRETSCHNEIDER, G.; ELIZALDE, J. C.; PÉREZ, F. A. The effect of feeding antibiotic growth promoters on the performance of beef cattle consuming forage-based diets: a review. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 114, p. 135–149, 2008.
- BUENO, I. C. S. *et al.* *In vitro* methane production and tolerance to condensed tannins in five ruminant species. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 205, p. 1–9, 2015.
- CALLAWAY, T. R. *et al.* Ionophores: their use as ruminant growth promotants and impact on food safety. Ionophores impact on food safety. **Current Issues Intestinal Microbiology**, Wymondham, v. 4, n. 2, p. 43-51, 2003.
- CARO, D.; KEBREAB, E.; MITLOEHNER, F. M. Mitigation of enteric methane emissions from global livestock systems through nutrition strategies. **Climate Change**, Hoboken, v. 137, p. 467–480, 2016.
- CARULLA, J. E.; MACHMUELLER, A.; HESS, H. D. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decrease methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, East Melbourne, v. 56, p. 961–970, 2005.

CIESLAK, A. *et al.* Plant components with specific activities against rumen methanogens. **Animal**, Cambridge, v. 7, p. 253-265, 2013. Supl. 2.

COCITO, C. G. Antibiotics of the virginiamycin family, inhibitors which contain synergistic components. **Microbiological Reviews**, Washington, DC, v. 43, n. 2, p. 145–198, 1979.

COTTON, W. R.; PIELKE, R. A. **Human impacts on weather and climate**. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. 288 p.

CROSSLAND, W. L. *et al.* Effects of rotating antibiotic and ionophore feed additives on volatile fatty acid production, potential for methane production, and microbial populations of steers consuming a moderate-forage diet. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 95, p. 4554–4567, 2017.

CZERKAWSKI, J. W. Degradation of solid feeds in the rumen: spatial distribution of microbial activity and its consequences. *In*: MILLIGAN, L. P.; GROVUM, W. L. **Control of digestion and metabolism in ruminants**. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1986. p. 158-172.

DOU, Z. *et al.* Managing nitrogen on dairy farms: an integrated approach I. Model description. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, n. 11, p. 2071-2080, 1996.

DOUGLAS, G. B. *et al.* Liveweight gain and wool production of sheep grazing *Lotus corniculatus* and lucerne (*Medicago sativa*). **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, v. 38, n. 1, p. 95–104, 1995.

DSCHAAK, C. M. *et al.* Effects of supplementing condensed tannin extract on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, p. 2508–2519, 2011.

FAGUNDES, G. M. *et al.* Tannin as a natural rumen modifier to control methanogenesis in beef cattle in tropical systems: friend or foe to biogas energy production? **Research in Veterinary Science**, London, v. 132, p. 88-96, 2020.

FAHEY, G. C. Jr.; JUNG, H. J. G. Phenolic compounds in forages and fibrous feedstuffs. *In*: CHEEKE, P. R. (ed.). **Toxicants of plant origin**. Boca Raton: CRC, 1989. v. 4, p. 123-190.

FRUTOS, P. *et al.* Condensed tannin content of several shrub species from amountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 92, p. 215-226, 2002.

GOEL, G.; MAKKAR, H. P. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins. **Tropical Animal Health and Production**, Dordrecht, v. 44, n. 4, p. 729-739, 2012.

GRAINGER, C. *et al.* Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 89, p. 241–251, 2009.

GUAN, H. *et al.* Efficacy of ionophores in cattle diets for mitigation of enteric methane. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, n. 7, p. 1896-1906, 2006.

HART, K. J. *et al.* Plant extracts to manipulate rumen fermentation. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 147, n. 1/3, p. 8-35, 2008.

HEGARTY, R.; KLIEVE, A. Opportunities for biological control of ruminal methanogenesis. **Crop & Pasture Science** v. 50, n. 8, p. 1315–1320, 1999.

HERREMANS, S. *et al.* Effect of dietary tannins on milk yield and composition, nitrogen partitioning and nitrogen use efficiency of lactating dairy cows: a meta-analysis. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 104, n. 5, p. 1209-1218, 2020.

HOOK, S. E.; WRIGHT, A. D.; MCBRIDE, B. W. Methanogens: methane producers of the rumen and mitigation strategies. **Archaea**, New York, v. 2010, [art.] ID 945785, 2010.

HRISTOV, A. N. *et al.* Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 91, p. 5045–5069, 2013.

HUANG, X. D. *et al.* Effects of *Leucaena* condensed tannins of differing molecular weights on *in vitro* CH<sub>4</sub> production. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 166/167, p. 373–376, 2011.

HUNGATE, R. E. **The rumen and its microbes**. New York: Academic Press, 1966.

HUTCHINGS, N. J.; SOMMER, S. G.; JARVIS, S. C. A model of ammonia volatilization from a grazing livestock farm. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 30, p. 589–599, 1996.

JOHNSON, K. A.; JOHNSON, D. E. Methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 8, p. 2483-2492, 1995.

JONES, W. T.; MANGAN, J. L. Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 28, n. 2, p. 126-136, 1977.

JOUANY, J. P.; MORGAVI, D. P. Use of ‘natural’ products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. **Animal**, Cambridge, v. 1, n. 10, p. 1443–1466, 2007.

KOHN, R. A. *et al.* A sensitivity analysis of nitrogen losses from dairy farms. **Journal of Environmental Management**, London, v. 50, n. 4, p. 417-428, 1997.

KOZLOSKI, G. V. *et al.* Intake, digestibility and nutrients supply to wethers fed ryegrass and intraruminally infused with levels of *Acacia mearnsii* tannin extract. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 106, n. 2/3, p. 125-130, 2012.

KUMAR, S. *et al.* Changes in methane emission, rumen fermentation in response to diet and microbial interactions. **Research in Veterinary Science**, London, v. 94, p. 263–268, 2013.

- LANDAU, S. *et al.* Short-term changes in eating patterns explain the effects of condensed tannins on feed intake in heifers. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 69, p. 199-213, 2000.
- LEINMULLER, E.; STEINGASS, H.; MENKE, K. H. Tannins in ruminant feedstuffs. *In*: BITTNER, A. (ed.). **Animal research development**. Tübingen: Institut für Wissenschaftliche Zusammenarbeit, 1991. v. 33, p. 9-62.
- MAKKAR, H. P. S.; BLÜMMEL, M.; BECKER, K. *In vitro* effects of and interactions between tannins and saponins and the fate of tannins in the rumen. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 69, n. 4, p. 481-493, 1995.
- MAKKAR, H. P. S. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 49, n. 3, p. 241-256, 2003.
- McGINN, S. M. *et al.* Methane emissions from beef cattle: effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 11, p. 3346-3356, 2004.
- McMAHON, L. R. *et al.* A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 80, p. 469-485, 1999.
- MENDEL, M. *et al.* Phytogetic feed additives as potential gut contractility modifiers - a review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 230, p. 30-46, 2017.
- MIN, B. R. *et al.* The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 105, p. 3-19, 2003.
- MOLLENHAUER, H. H.; MORRÉ, D. J.; ROWE, L. D. Alteration of intracellular traffic by monensin, mechanism, specificity and relationship to toxicity. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes**, Amsterdam, v. 1031, n. 2, p. 225-246, 1990.
- MORGAVI, D. P. *et al.* Rumen protozoa and methanogenesis: not a simple cause-effect relationship. **British Journal of Nutrition**, Wallingford, v. 107, p. 388-397, 2012.
- MUELLER-HARVEY, I.; McCALLAN, A. B. Tannins their biochemistry and nutritional properties. **Advances in Plant Cell Biochemistry and Biotechnology**, London, v. 1, p. 151-217, 1992.
- MUELLER-HARVEY, I. *et al.* Benefits of condensed tannins in forage legumes fed to ruminants: Importance of structure, concentration, and diet composition. **Crop Science**, Madison, v. 59, n. 3, p. 861-885, 2019.
- NAGAJARA, T. G.; NEWBOLD, C. J.; VAN NEVEL, C. J. Manipulation of ruminal fermentation. *In*: HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. (ed.). **The rumen microbial ecosystem**. London: Blackie Academic and Professional, 1997. p. 523- 632.

- NAUMANN, H. D. *et al.* The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 46, n. 12, p. 929-949, 2017.
- NGWA, A. T.; NS AHLAI, I. V.; IJI, P. A. Effect of supplementing veld hay with a dry meal or silage from pods of *Acacia sieberiana* with or without wheat bran on voluntary intake, digestibility, excretion of purine derivatives, nitrogen utilization, and weight gain in South African Merino sheep. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 77, p. 253-264, 2002.
- NORRIS, A. B. *et al.* 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. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 260, [art.] 114365, 2020.
- OENEMA, J.; KOSKAMP, G. J.; GALAMA, P. J. Guiding commercial pilot farms to bridge the gap between experimental and commercial dairy farms; the project 'Cows & Opportunities'. **NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences**, [Wageningen], v. 49, n. 2/3, p. 277-296, 2001.
- OLIVEIRA, S. G.; BERCHIELLI, T. T. Potencialidades da utilização de taninos na conservação de forragens e nutrição de ruminantes- revisão. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 12, n. 1, p. 1-9, 2007.
- ORLANDI, T. *et al.* Digestibility, ruminal fermentation and duodenal flux of amino acids in steers fed grass forage plus concentrate containing increasing levels of *Acacia mearnsii* tannin extract. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 210, p. 37-45, 2015.
- PATRA, A. K.; SAXENA, J. A review of the effect and mode of action of saponins on microbial population and fermentation in the rumen and ruminant production. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 22, n. 2, p. 204-219, 2009.
- PATRA, A. K. Enteric methane mitigation technologies for ruminant livestock: a synthesis of current research and future directions. **Environmental Monitoring and Assessment**, Dordrecht, v. 184, n. 4, p. 1929-1952, 2012.
- PATRA, A. K. *et al.* Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, London, v. 8, [art.]13, 2017.
- PEREZ-MALDONADO, R. A.; KERVEN, G. L. Factors affecting *in vitro* formation of tannin-protein complexes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 69, n. 3, p. 291-298, 1995.
- PERNA JUNIOR, F. *et al.* Effect of tannins-rich extract from *Acacia mearnsii* or monensin as feed additives on ruminal fermentation efficiency in cattle. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 203, p. 21-29, 2017.
- PERS-KAMCZYC, E. *et al.* Development of nucleic acid based techniques and possibilities of their application to rumen microbial ecology research. **Journal of Animal and Feed Science**, Jabłonna, v. 20, n. 3, p. 315-337, 2011.

- PESSARAKLI, M. Advance of common bean and Brachiaria to abiotic stresses adaptation of Brachiaria forage grasses to abiotic constraints. *In*: PESSARAKLI, M. **Handbook of plant and crop physiology**. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2014. cap. 39, p. 863-889.
- PETERS, M. *et al.* Challenges and opportunities eco-efficiency of tropical forage-based systems to mitigate greenhouse gas emissions. **Tropical Grassland - Forages Tropicales**, Cali, v. 1, p. 156–167, 2013.
- PINA, D. S. *et al.* Influence of different levels of concentrate and ruminally undegraded protein on digestive variables in beef heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, p. 1058–1067, 2009.
- POPOVA, M.; MORGAVI, D. P. E.; MARTIN, C. Methanogens and methanogenesis in the rumen and cecum of lambs fed two different high-concentrate diets. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 79, n. 6, p. 1777-1786, 2012.
- PUCHALA, R. *et al.* The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, p. 182-186, 2005.
- REIS, R. A. *et al.* Semi-confinamento para produção intensiva de bovinos de corte. *In*: SIMPÓSIO MATOGROSSENSE DE BOVINOCULTURA DE CORTE, 1., 2011, Cuiabá, MT. **Anais [...]**. Cuiabá: Universidade Federal de Mato Grosso, 2011. p. 195-222.
- RIVERA-MÉNDEZ, C. *et al.* Effect of level and source of supplemental tannin on growth performance of steers during the late finishing phase. **Journal of Applied Animal Research**, Janakpuri, v. 45, n. 1, p. 199-203, 2017.
- ROTHER, M.; KRZYCKI, J. A. Selenocysteine, pyrrolysine, and the unique energy metabolism of methanogenic archaea. **Archaea**, New York, v. 2010, [art.] 453642, 2010.
- RUSSELL, J. B. **Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition**. Ithaca: Cornell University, 2002.
- RUSSELL, J. B.; STROBEL, H. J. Effect of ionophores on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 55, n. 1, p. 1-6, 1989.
- SANTOS-BUELGA, C.; SCALBERT, A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Journal of the Science of Food Agriculture**, London, v. 80, n. 7, p. 1094–1117, 2000.
- SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, Oxford, v. 30, n. 12, p. 3875–3883, 1991.
- SIQUEIRA, G. R. *et al.* Aditivos para bovinos de corte em pastejo. *In*: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA DE CORTE, 7., 2012, São Pedro –SP. **Anais [...]**. São Paulo: FEALQ, 2012. p. 384-423.

SKILLMAN, L. C. *et al.* 16S ribosomal DNA-directed PCR primers for ruminal methanogens and identification of methanogens colonising young lambs. **Anaerobe**, London, v. 10, n. 5, p. 277–285, 2004.

SUPAPONG, C. *et al.* Effect of *Delonix regia* seed meal supplementation in Thai native beef cattle on feed intake, rumen fermentation characteristics and methane production. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 232, p. 40–48, 2017.

SZUMACHER-STRABEL, M.; CIESLAK, A.; NOWAKOWSKA, A. Effect of oils rich in linoleic acid on in vitro rumen fermentation parameters of sheep, goats and dairy cows. **Journal of Animal and Feed Sciences**, Jabłonna, v. 18, p. 440–452, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Metabólitos secundários e defesa vegetal. *In*. TAIZ, L.; ZEIGER, E.; OLIVEIRA, P. L. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. cap. 13, p. 309-334.

TAVENDALE, M. H. *et al.* 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**, Amsterdam, v. 123, p. 403-419, 2005.

TEDESCHI, L. O.; FOX, D. G.; TYLUTKI, T. P. Potential environmental benefits of ionophores in ruminant diets. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v. 32, n. 5, p. 1591–1602, 2003.

TEDESCHI, L. O. *et al.* Potential environmental benefits of feed additives and other strategies for ruminant production. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 40, p. 291-309, 2011.

TEDESCHI, L. O.; FOX, D. G. **The Ruminant nutrition system: an applied model for predicting nutrient requirements and feed utilization in ruminants**. Ann Arbor, MI: XanEdu, 2016.

VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER D. I. Feed additives and other interventions for decreasing methane emissions. *In*: WALLACE, R. J.; CHESSON, A. (ed.). **Biotechnology in animal feeds and animal feeding**. New York: VCH, 2008. p. 329-350.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2nd ed. Ithaca: Cornell University, 1994.

VOGELS, G. D.; HOPPE, W. F.; STUMM, C. K. Association of methanogenic bacteria with rumen ciliates. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 40, n. 3, p. 608–612, 1980.

WOLIN, M. J. A theoretical rumen fermentation balance. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 43, n. 10, p. 1452-1459, 1960.

WOODWARD, S. L. *et al.* Early indications that feeding *Lotus* will reduce methane emissions from ruminants. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, Wellington, v. 61, p. 23–26, 2001.



## Apêndice

Apêndice 1. Endereço eletrônico do Guia para Autores da revista The Journal of Agricultural Science.

O primeiro manuscrito deste estudo será submetido na revista The Journal of Agricultural Science (CambridgeCore) conforme o Guia para Autores (<https://www.cambridge.org/core/journals/journal-of-agricultural-science/information/instructions-contributors>). A The Journal of Agricultural Science possui atualmente Fator de Impacto 1,082 e Qualis A2.

Apêndice 2. Endereço eletrônico do Guia para Autores da revista Animal Feed Science and Technology.

O segundo manuscrito deste estudo será submetido na revista Animal Feed Science and Technology conforme o Guia para Autores (<https://www.elsevier.com/journals/animal-feed-science-and-technology/0377-8401/guide-for-authors>). A Animal Feed Science and Technology possui atualmente Fator de Impacto 2,582 e Qualis A1.

### Vita

Danielle Dias Brutti, filha de Ronaldo Brutti e Maira Izoleti Dias Brutti, nascida em 19 de junho de 1990, em Santa Maria – RS. Coursou o ensino fundamental e médio na E.E. Padre Rômulo Zanchi. Em 2010, ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Federal de Santa Maria – UFSM/RS. Durante os anos do curso desenvolveu atividades de pesquisa e extensão junto ao Setor de Ovinocultura sob as orientações dos professores Cléber Cassol Pires e Sérgio Carvalho. Formou-se em Zootecnia em fevereiro de 2015. Sequencialmente, em março de 2015 ingressou no Mestrado em Ciência Animal, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal pela Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT/MT, sob orientação do professor Nelcino Francisco de Paula e desenvolveu o trabalho de “Taninos na fermentação ruminal *in vitro* do capim Marandu adubado ou não com nitrogênio”. Em abril de 2017 iniciou o Doutorado na Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS/RS sob orientação do professor Júlio Otávio Jardim Barcellos. Foi submetido a banca de defesa de Doutorado em março de 2021.