

Informe final publicable de proyecto

Rol de la microbiota ruminal en la eficiencia de conversión y emisiones de metano en ganado de carne

Código de proyecto ANII: FSA_1_2018_1_152872

Fecha de cierre de proyecto: 01/10/2025

NAVAJAS VALENTINI, Elly Ana (Responsable Técnico - Científico)

LICANDRO ERRAZOLA, Santiago (Investigador)

PEREIRA PAGOLA, Joaquín (Investigador)

IRAOLA BENTANCOR, Gregorio Manuel (Investigador)

NAYA MONTEVERDE, Hugo Mario (Investigador)

PERAZA DOS SANTOS, Pablo (Investigador)

SOTELO SILVEIRA, José Roberto (Investigador)

VELAZCO DE LOS REYES, José Ignacio (Investigador)

AGUILAR GARCIA, Ignacio (Investigador)

CIAPPESONI SCARONE, Carlos Gabriel (Investigador)

CIGANDA BRASCA, Veronica Solange (Investigador)

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA. INIA LAS BRUJAS (Institución Proponente) \\
ORGANIZACIONES SIN FINES DE LUCRO. SOCIEDAD DE CRIADORES HEREFORD DEL URUGUAY \\
MINISTERIO DE EDUCACIÓN Y CULTURA. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS "CLEMENTE ESTABLE" \\
INSTITUTO PASTEUR DE MONTEVIDEO \\
INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA

Resumen del proyecto

La ganadería en Uruguay es clave para su desarrollo económico y social, y la generación de servicios ecosistémicos, pero también es una gran fuente de emisiones de gases de efecto invernadero, en especial de metano. Para enfrentar este desafío, el proyecto se enfocó en contribuir a maximizar el aporte de la selección genética a la sustentabilidad ganadera, con eje en eficiencia de conversión y emisiones de metano. El trabajo combinó mediciones de consumo de alimento, eficiencia de conversión, emisiones de metano y análisis del microbioma ruminal. Se evaluaron toritos y novillos Hereford en diferentes etapas de alimentación, y se analizaron muestras ruminales usando técnicas genómicas avanzadas. Así, se identificaron asociaciones entre la genética de los animales, su microbiota y su eficiencia de conversión de alimento. Los resultados mostraron que animales más eficientes consumen hasta un 20% menos alimento, reduciendo costos sin afectar su crecimiento. Además, estos animales tienden a emitir menos metano, contribuyendo a las metas de mitigación de Uruguay. También se encontró que ciertos microorganismos del rumen tienen un papel importante en estas características, abriendo nuevas oportunidades para estrategias de selección genética y manejo nutricional. El proyecto fortaleció las capacidades nacionales en medición de metano y análisis metagenómicos y metatranscriptómicos, generando datos únicos sobre la microbiota ruminal, que podrán ser utilizados en futuras investigaciones orientadas a la mitigación de las emisiones de metano, sin comprometer la productividad ganadera.

Ciencias Agrícolas / Biotecnología Agropecuaria / Tecnología GM, clonación de ganado, selección asistida, diagnósticos, etc. / Biotecnología y mejoramiento genético

Palabras clave: metagenómica ruminal / metatranscriptómica ruminal / intensificación sustentable /

Antecedentes, problema de investigación, objetivos y justificación.

La mitigación de las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) es un desafío global para la disminución de los impactos del cambio climático, en el Acuerdo de París y el Global Methane Pledge, los cuales Uruguay ha suscrito. Del total de emisiones de GEI de Uruguay, el 73% corresponde al sector Agricultura, siendo el metano el principal GEI en este sector (BTR1, 2024). Dado que el 96% de las emisiones de metano de este sector son debidas a la fermentación ruminal (metano entérico), la implementación de estrategias para el sector pecuario tendrá un impacto significativo en alcanzar la metas de mitigación nacionales.

En las Contribuciones Determinadas a nivel Nacional (CDN) publicadas en 2022 y 2024 establecen metas específicas para el sector ganadero expresadas en términos de intensidad de emisiones de metano, que es definida como las emisiones absolutas de metano por cantidad de producto. Esta forma de expresión considera el equilibrio entre emisiones de metano y la productividad de manera de que el foco en mitigación no vaya en perjuicio en la producción ganadera, la cual tiene un papel estratégico dado su importancia económica, social y ambiental (CDN3, 2024). Además, la expresión de objetivos de mitigación de esta manera permite capitalizar mejoras de productividad para alcanzar dicha meta. Las CDN de Uruguay definen varias estrategias para alcanzar la reducción de la intensidad de emisiones de la ganadería, entre las cuales se encuentra el mejoramiento genético por selección (CDN3, 2024) y para la cual el país cuenta con un sistema de evaluación genética para las principales razas de larga data (Navajas et al., 2022).

Además de mejora genética de la productividad por selección de las características vinculadas a la producción y calidad del producto, la eficiencia de conversión del alimento ha sido planteada como un potencial criterio con impacto económico y ambiental. Existe evidencia de que la mejora de la eficiencia de

conversión, medida como consumo residual del alimento (RFI, residual feed intake, Koch et al., 1963), permite reducir el consumo de materia seca (lo que disminuiría los costos de alimentación) sin afectar el desempeño productivo (Cantalapiedra-Hijar et al., 2018). Esto implica beneficios económicos al contribuir a la reducción de los costos de producción, sin comprometer ingresos por producción.

A su vez el menor consumo de alimento podría implicar menores emisiones de metano, ya que como señala Kenny et al. (2018) el nivel de consumo y el tipo de dieta son determinantes claves de la cantidad de metano emitido por los rumiantes. Si bien varios estudios han encontrado que los animales más eficientes emiten menos metano entérico, otros no han reportado diferencias. Esta divergencia de resultados ha sido atribuida a diversos factores como el tipo de dieta utilizada, estado fisiológico del animal y métodos utilizados para medición de la emisiones individuales de metano.

La capacidad de medición de metano emitido es uno de los factores claves para la evaluación de estrategias de mitigación. Si bien existen actualmente varios métodos de medición del metano entérico, continúa siendo una determinación de alto costo y que requerimiento tecnológico muy demandante, lo cual dificulta el poder contar con registros en números elevados de animales y por períodos prolongados (Tedeschi et al., 2022). Esto lleva a que al desarrollo de nuevas alternativas de medición y un proceso de evaluación y mejora continua de los protocolos con los métodos ya disponibles, siendo este un proceso en el cual la generación de capacidades y formación de recursos humanos es clave.

A pesar de las dificultades de la medición de metano, estudios en ganado de carne y leche reportan que es una característica que está bajo control genético, con heredabilidades moderadas entorno de 0,20 a 0,25 (Dressler et al., 2024). Esto indica que existe potencial de reducir las emisiones de metano a partir de la selección genética de animales que emiten menos, lo cual ha llevado a la generación de iniciativas globales para acelerar su implementación, como el “Enteric Fermentation R&D Accelerator” (GMH, 2024). La cooperación internacional en estas iniciativas busca superar las restricciones de captura de información de emisiones de metano, a partir de la construcción de bases de datos mundiales.

La comunidad de microorganismos (bacterias, arqueas, protozoos, hongos y virus) que habitan el rumen (microbiota ruminal) tiene un rol fundamental en la producción de metano entérico. Esta es responsable de la digestión del alimento a través de la fermentación, proceso que genera ácido grasos volátiles que constituyen la fuente primaria de energía para el animal, así como metano como subproducto de dicho proceso. El microbioma ruminal, que reúne todas el contenido genético desempeña un papel fundamental en el sistema digestivo del rumen de un animal al codificar las enzimas que se requieren en el proceso digestivo y fermentación del alimento consumido. Profundizar en el conocimiento del microbioma ruminal es necesario para el diseño de estrategias de mitigación, y la comprensión de su impacto y efectividad en el largo plazo (Waters et al., 2025). Adicionalmente, la caracterización de la microbiota ruminal y su asociación con estas características aporta a la identificación de potenciales biomarcadores para la predicción fenotípica de estas características de difícil medición. Estos biomarcadores pueden considerarse como posibles proxy para aplicar para la expansión de las bases de datos requeridos para la selección.

En el caso de la contribución de la selección genética, se ha propuesto que el uso conjunto de información del microbioma y genómica del animal podrían contribuir a incrementar la precisión de la selección por animales que emiten menos metano (González-Recio et al., 2023a) o de mayor eficiencia de conversión de alimento (Martínez-Boggio et al., 2024). Se ha determinado que tanto la composición de la microbiota, la diversidad microbiana como la funcionalidad metabólica del microbioma son heredables (Li et al., 2019, Martínez-Álvaro et al., 2022, González-Recio et al., 2023b).

Dada el rol de la selección genética para la mayor sostenibilidad de la producción ganadera y la influencia de la genética animal y el microbioma ruminal en emisiones de metano y eficiencia de conversión, este estudio tuvo como objetivo general contribuir a maximizar el aporte de la mejora genética a la sustentabilidad económica y ambiental de la producción de carne bovina a partir de la caracterización de las asociaciones entre la microbiota ruminal y el genotipo del animal en las características mencionadas.

El proyecto tuvo tres componentes principales:

- 1) el estudio de la relación entre eficiencia de conversión y emisiones de metano entérico de novillos Hereford durante la recría y la terminación. Las dietas utilizadas en cada fase difirieron en la relación de fibra y grano, lo que permitió tener en cuenta el efecto de la alimentación en la relación entre ambas variables;
- (2) la realización de estudios metagenómicos y meta-transcriptómico para la caracterización taxonómica y funcional de la microbiota ruminal de los animales con información de eficiencia de conversión y emisiones de metano, realizada a través de diferentes estrategias genómicas; y
- (3) investigación de la relación entre el genotipo del hospedero y la microbiota ruminal en eficiencia de conversión y emisiones de metano, contando con la estimación de la heredabilidad de los fenotipos y de la microbiota.

Metodología/Diseño del estudio

En este proyecto se combinaron varias áreas de trabajo novedosas: 1) fenotipado de eficiencia de conversión (EFC) y emisiones de metano entérico (EME); 2) la colecta de muestras de líquido ruminal (LR) y su procesamiento para su almacenaje y posterior análisis; 3) un abordaje multiómico funcional para comprender la estructura poblacional en relación con el estado funcional del microbioma ruminal, a través de diferentes estrategias de secuenciación masiva y bioinformática.

Las pruebas de EFC, mediciones de EME y colecta de LR fueron llevados adelante en Central de Pruebas Hereford en Kiyú (Comité de Ética INIA, INIA2018.11). El procesamiento de las muestras de LR, almacenaje y posterior preparación para envío a secuenciar se realizó en el Banco de ADN Genómico en INIA Las Brujas. Los estudios relativos a la genómica del hospedero fueron complementados con datos genómicos disponibles en INIA.

1. Fenotipado de eficiencia de conversión y emisiones de metano entérico.

Se realizaron las mediciones de EFC y EME en toritos y novillos Hereford en recría y terminación. Se llevaron a cabo pruebas de EFC de 70 días, luego de un período de 28 días de acostumbramiento a la dieta y las instalaciones para las mediciones de consumo individual de alimento. Dichas mediciones se realizaron utilizando comederos automatizados (GrowSafe Systems Ltd) que permiten el registro individualizado en base a la lectura de la caravana electrónica. Los animales fueron alimentados ad libitum con una ración totalmente mezclada (RTM) ofrecida en dos entregas diarias, caracterizadas por Peraza et al. (2024) y contaron con acceso a agua ad libitum. En cada prueba se registró el peso vivo cada 14 días, sin ayuno previo. Además, el peso vivo inicial y final se registraron como la media de dos pesos tomados en días consecutivos al inicio y fin del período estudiado, sin ayuno previo (BIF, 2016). Con esta información se estimó la ganancia media diaria (GMD) por regresión lineal, aceptando aquellas con R² mayores a 0,95, y se calculó el peso metabólico medio (PMM). Al finalizar las pruebas, técnicos certificados de INIA realizaron mediciones del espesor de grasa dorsal (EGD) por ultrasonido (ALOKA® modelo SSD-500).

La medición de EFC fue realizada a través del consumo residual de alimento (RFI, residual feed intake), definido como la diferencia entre el consumo observado y el esperado de acuerdo con el peso y crecimiento del animal (Koch et al., 1963). La estimación del RFI para recría y engorde se basó en la ecuación propuesta por Basarab et al. (2003) (Pravia et al., 2022):

$$CMS = \text{Prueba} \times \text{corral} + b_0 + b_1 \text{ GMD} + b_2 \text{ PMM} + b_3 \text{ EGD} + e$$

Donde Y es el CMS, Prueba es el período de evaluación, Corral corresponde a uno de los dos corrales disponibles, b₀ es el intercepto, b₁, b₂ y b₃ son los coeficientes de regresión correspondientes a GMD, PMM y EGD, respectivamente, y e es el residuo.

Se utilizaron dos unidades del Sistema de Monitoreo de Emisiones de Greenfeed (GEM; C-Lock Inc., Rapid

City, EE. UU.) para la medición de las EME durante las pruebas de EFC, precedidos de una semana de entrenamiento y aclimatación. Estas unidades son estaciones de alimentación visitadas voluntariamente con acceso las 24 horas para recibir una pequeña recompensa de alimento (pellets), que fueron formulados con similar composición y energía que la RTM.

Mientras los animales visitan la unidad, un sistema RFID los identifica, y un ventilador aspira aire sobre la cabeza del animal colectando el metano y el anhídrido carbónico exhalados por cada animal durante la visita (Navajas y Peraza, 2024). El software del GEM informa sobre las EME individuales en gramos por día. Para el análisis de datos, con greenfeedr (Martinez-Boggio et al., 2025), se utilizaron al menos dos registros por día, con al menos tres días con registros y de una duración mínima de 2 minutos. La media de visitas por animal fue de 1,8 y 1,9 distribuidas a lo largo de todo el día para todos las dietas de recría y terminación, respectivamente.

Las variables de EME consideradas los estudios incluyeron: a) valor absoluto de EME (g/día), cuya relevancia proviene del objetivo de reducir las emisiones totales, y por ser base de las demás métricas; b) intensidad de metano se refiere a las EME absolutas en relación con la producción (kg de peso vivo o ganancia de peso), y es utilizada en la CDN de Uruguay (CDN3, 2024); y c) rendimiento de metano, que cuantifica las EME por unidad de consumo de alimento, expresadas ya sea como consumo de materia seca (CMS) o como contenido energético del alimento. Expresar el metano en relación con el CMS permite demostrar qué tan eficiente es una estrategia de mitigación, independientemente de los cambios en el consumo, principal determinante de las EME absolutas y asociado al desempeño animal (Tedeschi et al., 2022). La bases de datos total está descrita en el Anexo 1.

2. Colecta de líquido ruminal y procesamiento para posterior análisis

Se recolectaron muestras ruminales dentro de los dos días posteriores a la finalización de cada prueba de EFC. El muestreo se realizó durante dos mañanas consecutivas, mientras los animales aún permanecían con la misma dieta. Los animales fueron retirados del corral a las 6:00 a.m., y el proceso de muestreo comenzaba a las 8:00 a.m. con el fin de evitar la obtención de muestras ruminales diluidas.

El LR se recolectó utilizando una sonda oral, que es el método recomendado para su uso in vivo (Gonzalez-Recio et al., 2023b). Las sondas utilizadas fueron de 18 mm de diámetro y 220 mm de longitud, conectadas a una bomba manual. Para evitar la contaminación cruzada, se utilizó una sonda individual por animal, y la bomba fue limpiada cuidadosamente entre cada uso. Se tomaron muestras de las fracciones líquida y sólida del contenido ruminal en tubos de 50 mL, donde se midieron el pH y el peso. Para preservar la integridad de las muestras, los tubos se colocaron de inmediato sobre hielo seco, asegurando su congelación completa. Posteriormente, las muestras fueron transportadas al laboratorio y almacenadas a -80°C en INIA Las Brujas. Allí fueron liofilizadas utilizando un equipo Labconco Freeze Dry System/FreeZone® 4.5 (LABCONCO Corporation, Kansas City, MO, EEUU) (Peraza et al., 2024a).

3. Secuenciación de muestras de líquido ruminal

Para los estudios metagenómicos y meta-transcriptómicos para de caracterización taxonómica y funcional del microbioma ruminal se utilizaron las siguientes metodologías.

3.1 Secuenciación por representación reducida con enzimas de restricción

En marco del proyecto Enteric Fermentation Flagship, financiado por la Global Research Alliance, se secuenciaron muestras de LR utilizando la metodología de secuenciación por representación reducida con enzimas de restricción (restriction enzyme–reduced representation sequencing, ER-RRS), una técnica de bajo costo propuesta por Hess et al. (2020). Se secuenciaron alrededor de 800 muestras de LR provenientes de animales con información sobre EFC y EME, medidas en el marco de este proyecto, así como también muestras recolectadas previamente y que se adicionaron al proyecto.

3.2 Secuenciación shotgun

La secuenciación metagenómica shotgun es una herramienta valiosa para explorar la diversidad genética y las capacidades funcionales de las comunidades microbianas, debido a su capacidad para secuenciar todo el DNA presente en una muestra (Ranjan et al., 2018). Esta técnica captura una representación bastante completa del microbioma, permitiendo la identificación de varios organismos, incluyendo bacterias, virus y otros microorganismos eucariotas. El proceso de la secuenciación metagenómica implica normalmente la fragmentación aleatoria del ADN extraído de una muestra, seguida de la secuenciación de estos fragmentos para producir millones de lecturas cortas, que se utilizarán después para reconstruir genomas y dilucidar la composición taxonómica de las comunidades microbianas (Sato et al., 2024). La extracción de DNA y posterior secuenciación se realizaron en la empresa NOVOGENE Inc. a partir del material enviado en hielo seco a sus laboratorios. Se realizó la secuenciación con librerías PE de 150bp utilizando la tecnología Illumina NovaSeq 6000 Sequencing SystemNOVASEq. Distintos paquetes en la suite OmicsBox v3.3.2 (2024) fueron utilizados para el análisis y visualización de los datos, en controles de calidad, diversidad y estudios diferenciales. Se enviaron 30 muestras de animales pertenecientes a pruebas de EFC de recría y engorde y clasificados como de alta y baja EFC y que contaban con EME.

3.3 Secuenciación por meta-transcriptómica.

Esa técnica representa un avance significativo en la comprensión funcional de las comunidades microbianas al determinar la expresión activa de los genes en base al análisis del total del ARN extraído de una comunidad microbiana. Proporciona información sobre la identidad de los organismos presentes, como en la metagenómica, así como sobre su dinámica funcional, lo que resulta esencial para comprender los procesos metabólicos y las interacciones funcionales entre organismos (Mallick et al., 2017; Ranjan et al., 2018). El proceso implica la extracción del ARN total, seguido de la eliminación del ARN ribosómico (ARNr). Esto facilita la secuenciación del ARNm, precursor de proteínas y otros tipos de transcritos activos cruciales para la función de la comunidad. Para el análisis se han desarrollado herramientas computacionales y líneas bioinformáticas avanzadas que permiten analizar y normalizar con precisión los datos meta-transcriptómicos (Westreich et al., 2018).

La extracción de ARN y posterior secuenciación se realizó en la empresa NOVOGENE Inc. a partir del material enviado en hielo seco de 40 muestras de animales pertenecientes a EFC en fases de recría y engorde y clasificados como de alta y baja EFC y que cuentan con mediciones de EME. La secuenciación fue realizada con librerías PE de 150bp utilizando la tecnología Illumina NovaSeq 6000 Sequencing SystemNOVASEq. La calidad de las lecturas crudas fue evaluada mediante el software FASTQC, que fueron luego procesadas con el pipeline SAMSA2 (Westreich et al., 2018), que realiza un recorte de las secuencias obtenidas empleando el software trimmomatic (SLIDINGWINDOW:4:15 MINLEN:70). El pipeline asume que las lecturas tienen un inserto corto, por lo que se debió modificar el paso de filtrado de reads ribosomales con SortMeRNA para que también filtre los reads que no fueron unidos con PEAR. Tanto los reads unidos como los que no lograron ser unidos por PEAR fueron utilizados para un paso agregado al pipeline de ensamblado del meta-transcriptoma de la muestra utilizando SPADES (Bankevich et al., 2012). Los transcritos resultantes fueron anotados por el mismo método que emplea el pipeline, contra una base de datos custom con datos de genomas bacterianos de RefSeq concatenada a los genomas de archaeas de RefSeq. Además, se utilizaron paquetes de la suite OmicsBox v3.3.2 para el análisis y visualización de los datos, tanto en controles de calidad, diversidad y estudios diferenciales.

3.4 Secuenciación por Hi-C

En el Banco de ADN se procesaron muestras de 6 animales pertenecientes a la dieta de recría del año 2023, 3 de alta EFC (LRFI) y 3 de baja EFC (HRFI) y con información de EME, que fueron enviadas a

PhaseGenomics. Se enviaron muestras de DNA y muestras procesadas con un crosslinker para secuenciar todo el material genético de cada muestra y asociar microorganismos y componentes.

La obtención de genomas completos es base para la identificación de genes asociados con metabolismo y digestión de nutrientes en bacterias presentes, la presencia de genes de resistencia a fagos o mecanismos de defensa, genes bacterianos de fermentación, producción de ácidos grasos volátiles, y enzimas digestivas entre grupos. Asimismo, el armado de genomas completos posibilita un análisis transcriptómico de mayor precisión en el experimento de meta-transcriptoma.

La comparación de interacciones entre bacterias y virus permitirán realizar un análisis de coocurrencia microbiana para determinar si ciertas especies están enriquecidas o ausentes en cada grupo, como también identificar especies clave dentro de las redes, que podrían estar relacionadas con la EFC o las EME.

Resultados, análisis y discusión

1) Estudio de la asociación entre eficiencia de conversión y emisiones de metano, y determinación de factores de emisión.

La mejora de la eficiencia de conversión del alimento (EFC) está asociada a una reducción del consumo de alimento que no afecta el desempeño. Las diferencias de consumo, entre los animales de alta y baja eficiencia están en el entorno del 15 al 23% del consumo promedio, esto es tanto para la recría como en el terminación. Esto conlleva a una contribución significativa a la reducción de los costos de producción, ya que la alimentación representa entre 70 y 80% de los mismos.

La asociación fenotípica entre las EFC entre la recría e terminación, así como de las EME, calculada para los animales que se incluyeron en este estudio, fueron moderadas, presentando valores de correlación de 0,52 para el consumo residual de alimento y de 0,54 para las emisiones de metano.

La reducción en el consumo está asociada a menores emisiones de metano, aunque esta relación no es siempre proporcional, ya que intervienen otros factores que también influyen en la disminución de las emisiones (calidad de la dieta, genética animal, microbiota ruminal, etc). Las correlación observadas entre consumo y emisión fueron de aproximadamente 0,51 para la etapa de la recría y 0,42 en la de engorde.

La correlación fenotípica entre los datos de eficiencia de conversión y las emisiones de metano fueron de 0,13 y 0,20, para la recría y el engorde respectivamente. Esto no es claro aún en la literatura, ya que la eficiencia estaría midiendo una eficiencia que no es solo la digestiva,

Se ha cuantificado, en coincidencia con otros estudios, que una mayor EFC se asocia a un mayor valor de rendimiento en las emisiones de metano (MY – Methane Yield). Esto se explica porque los animales más eficientes, al consumir menos, presentan mayores emisiones de metano por unidad de consumo. En nuestros estudios para la recría, los valores de MY fueron de 19,3 y 15,6 (gCH₄/kg de alimento) para los animales de alta y baja EFC respectivamente, representando una diferencia del 24%, mientras que, en el engorde, los valores fueron de 20,2 y 19,0 (gCH₄/kg de alimento) entre alta y baja EFC, representando una diferencia del 6%. La hipótesis para explicar esta diferencia es que existe un mayor aprovechamiento de los componentes del alimento por parte de los animales eficientes, una mejora en la digestibilidad, generando una mayor/mejor fermentación, desencadenando una mayor pérdida por emisiones de metano entérico.

Además, se ha cuantificado la emisión de metano en función de su intensidad de emisión (MI – Methane Intensity) definida como las emisiones de metano por unidad de producto generado. En nuestro caso, kg de peso vivo del animal durante la prueba. Esto nos arroja interesantes valores, donde las MI para la recría fueron de 122,2 y 128,5 para los animales eficientes e ineficientes en la recría, y de 145,3 y 159,7 (gCH₄/kg de peso) en el engorde. Estas diferencias significativas en nuestros análisis indican que los animales más eficientes son los animales de menores emisiones de metano por unidad de producto generado, siendo este

uno de los compromisos a nivel país en mitigación, en el marco del acuerdo de París.

La contribución de la mejora de la EFC a la mitigación de gases de efecto invernadero está vinculada a la reducción de la intensidad de emisiones de metano. Esto está alineado con las metas de mitigación definidas para la ganadería en Uruguay.

2) Caracterización de la microbiota ruminal y asociación con eficiencia de conversión y emisiones de metano

En el estudio “Exploring the Linkage Between Ruminal Microbial Communities on Postweaning and Finishing Diets and Their Relation to Residual Feed Intake in Beef Cattle” (Peraza et al., 2024a), se investigó cómo las comunidades microbianas del rumen varían según la dieta (recría o terminación) y cómo estas variaciones se relacionan con la eficiencia de conversión (EFC), medida mediante el índice de consumo residual (RFI). Se analizaron 324 muestras de líquido ruminal (LR) provenientes de toros y novillos, clasificándolos por su EFC. La caracterización microbiana se realizó utilizando la técnica de representación reducida por enzimas de restricción (ER-RRS).

Los resultados revelaron que la dieta afecta significativamente la diversidad y abundancia microbiana. En la dieta de recría, se identificaron géneros como *Butyrivibrio*, *Bacteroides*, *Methylobacterium*, *Pseudomonas* y *Succinivibrio*. En la dieta de terminación, destacaron *Acetobacter* y *Acetoanaerobium*, asociados con un ambiente fermentativo más estable. En animales con mayor eficiencia se identificaron géneros como *Streptomyces*, *Prevotella*, *Fibrobacter* y *Bifidobacterium*, mientras que en los menos eficientes se observaron mayores niveles de *Mycolicibacterium*, *Acetobacter* y *Achromobacter*. Estos últimos, particularmente *Acetobacter*, se vinculan con un impacto negativo sobre la EFC.

Esto indica que las diferencias en la microbiota ruminal podrían estar influidas por la dieta y, a su vez, afectar la EFC con la que los animales aprovechan los nutrientes.

- Caracterización metagenómica de comunidades microbianas

Para estudiar los cambios microbianos asociados a la dieta y la EFC, se analizaron las abundancias relativas (AR) de taxones a nivel de orden. En la dieta de recría no se observaron diferencias significativas entre animales de alta y baja EFC. Sin embargo, bajo la dieta de terminación, se detectó una disminución de Enterobacteriales y un aumento de Oscillospirales en animales de alta eficiencia, aunque sin significación estadística. Comparando dietas, Enterobacteriales fue más abundante en recría, mientras que Oscillospirales y Christensenellales aumentaron significativamente en terminación (Mann-Whitney, $p < 0,05$). Se evaluó además la proporción Bacteroidetes/Firmicutes (B/F), comúnmente usada como indicador de equilibrio microbiano. Esta proporción fue mayor en animales con dieta de recría que en los de terminación ($p < 0,001$), y también más alta en los de baja EFC dentro del grupo de terminación ($p < 0,05$). No se hallaron diferencias en la proporción B/F entre animales de alta y baja EFC dentro de la dieta de recría, lo que sugiere una interacción compleja entre dieta y eficiencia sobre la composición bacteriana.

Dado el papel de los arqueas metanogénicos en el metabolismo ruminal, se analizó la abundancia del género *Methanobrevibacter_A*, observándose mayores niveles bajo dieta de terminación ($p < 0,001$). Aunque no hubo diferencias significativas dentro de cada grupo de EFC, se observó una tendencia a mayor abundancia en animales menos eficientes.

Finalmente, los índices de diversidad alfa (Shannon, Simpson y Pielou) revelaron mayor diversidad en los animales con dieta de terminación frente a los de recría ($p < 0,001$). Solo en la dieta de terminación se encontró una diferencia significativa entre animales de alta y baja EFC ($p < 0,05$), especialmente en el índice de Shannon.

- Resultados de taxonomía y la diversidad a partir de datos de meta-transcriptómica

El análisis taxonómico de datos meta-transcriptómicos confirmó una mayor diversidad alfa en animales con dieta de terminación respecto a los de recría. Sin embargo, esta microbiota más rica fue también menos equitativa, es decir, dominada por unas pocas especies. En la dieta de recría, se observó que los individuos de alta EFC tenían microbiotas más dominadas que los de baja EFC.

El análisis de diversidad beta mostró que las comunidades microbianas se agruparon significativamente por tipo de dieta (PERMANOVA, $p < 0,05$), lo que indica que no solo varía la cantidad de especies, sino también la identidad de las mismas. Sin embargo, no se observó una agrupación clara por EFC, ya que los perfiles microbianos de animales eficientes e ineficientes se distribuyeron de forma entremezclada. Este patrón fue confirmado por la falta de significancia estadística en el test PERMANOVA para EFC.

Entre los géneros con mayor representación transcripcional se encontraron *Pedobacter*, *Prevotella*, *Lachnospiraceae*, *Clostridiales*, *Stenotrophomonas*, *Anaeromassilibacillus*, *Prevotellaceae*, *Methanobrevibacter* y *Butyrivibrio*, así como arqueas metanogénicas como *Methanobrevibacter*, *Methanosarcina* y *Methanosphaera*.

- Resultados de análisis de expresión diferencial de funciones y abundancia diferencial de microorganismos

El análisis de expresión diferencial mostró funciones significativamente distintas entre microbiotas de animales bajo distintas dietas, así como entre grupos de EFC dentro de cada dieta. Entre los grupos de EFC, se obtuvieron 47 y 22 funciones diferenciales (con un valor de cambio >1 y $FDR < 0.05$) en recría y terminación, respectivamente. Para la recría, se destacaron genes asociados a la producción de metano (marcadores 12 y 14). Estos marcadores indican la presencia de ciertas enzimas y cofactores claves que aumentan la producción de metano, encontrándose puntualmente sobre expresados en los animales de baja eficiencia. Este último dato es consistente con los análisis de abundancia relativa de ciertas especies metanogénicas obtenidas por secuenciación shotgun. En cambio, bajo dietas de terminación, no se detectaron diferencias en funciones relacionadas al metabolismo del metano entre grupos de EFC, aunque sí se mostraron funciones relacionadas a la utilización de carbohidratos complejos (celulosa, almidón) y al redireccionamiento del carbono hacia la biosíntesis en lugar de la fermentación en los animales de mayor EFC.

- Resultados de la secuenciación por hibridación (Hi-C) de microorganismos del rumen

Generamos por muestra, un promedio de 270 ensamblados por encima del 50% de completitud, con bajos niveles de contaminación y redundancia, y teniendo índices de novedad superiores al 90%. Esto es muy buen avance en el conocimiento de la composición de los genomas del rumen de bovinos Hereford, ya que por otras metodologías el 50% de las especies no son asignables a taxas específicas. En este caso un buen porcentaje de esos elementos desconocidos ahora al menos tiene un genoma bastante bien armado y procederemos a realizar las caracterizaciones evolutivas y funcionales correspondientes. El índice de novedad obtenido nos indica que nuestra población ruminal tiene características propias en comparación con genomas de bases de datos actuales, por lo que este aporte significa nueva información sobre la diversidad microbiana ruminal en Uruguay, con potencial a explorar estas comunidades. La implementación de esta técnica, en comparación con el trabajo nuestro de secuenciación por shotgun utilizando todas las muestras ($n = 20$) con buen nivel de profundidad, obtuvimos un total de 102 genomas, de un N50 cercano a los 1.100 pares de bases, mientras que con la metodología Hi-C, obtuvimos en promedio por cada una de las muestras, 270 genomas con valores de N50 promedio a 30.000 pares de bases. La integración de los datos genómicos permitirá una visión funcional integrada de vías metabólicas presentes para seguir comprendiendo características del rumen uruguayo.

Por lo general en los estudios de metagenómica ruminal en el mundo, no existe la posibilidad de obtener la

información de metagenoma completos propios, no existiendo en la literatura estudios que aborden este tema para estudios de taxonomía y expresión.

Estos genomas microbianos completos, nos van a permitir para éste y para futuros trabajos de investigación en metagenómica ruminal, profundizar estudios de expresión e identificación de funciones diferenciales en distintos procesos, conociendo muchas veces al microorganismo responsable.

3) Genética del hospedero en asociación con la microbiota y las características fenotípicas en estudio

La investigación de la interacción entre la genética del hospedero y su microbiota ruminal es un área de creciente interés por su potencial impacto en aspectos relevantes a la sostenibilidad de la producción ganadera como la eficiencia productiva, las emisiones de metano y la salud animal. Para este componente se realizaron dos estudios, vinculados entre sí, en base al análisis combinado del microbioma del rumen y la información genómica del hospedero. La descripción de los resultados con más detalle se presenta en el Anexo 2.

En el primero de ellos se estimaron los componentes de varianza para el cálculos de los siguientes parámetros: heredabilidad (h^2) como la proporción de la varianza fenotípica explicada por el efecto genético, heredabilidad directa (h^2_d) y microbiabilidad (m^2), que representan la descomposición en el efecto genético directo y los efectos del microbioma sobre el fenotipo. Estos parámetros se estimaron para para consumo de alimento (DMI), RFI, rendimiento de metano e intensidad de metano. Los resultados muestran que la magnitud de la h^2_d (rango 0,18 a 0,25) fue siempre menor que las de las h^2 (rango 0,22 a 0,45) en todos los rasgos, indicando que parte de la varianza del fenotipo deriva del componente microbioma, que media los efectos genéticos del hospedero.

Con el objetivo de profundizar en el papel de la composición del microbioma del rumen, se evaluó el efecto de mediación del microbioma ruminal sobre las características en las cuales se contaba con más información (DMI, pesos (BW) y RFI). Para ellos, se estimaron las h^2 para los componentes de la matriz de microbiota compuesta por 1536 ASVs. Se identificaron ASVs con efecto fenotípico significativo, pero con bajo control genético, es decir, una heredabilidad menor a 0,10 se detectaron 280, 259 y 353 ASV y con una h^2 mayor a 0,1 se detectaron 84, 80 y 126 ASV para RFI, DMI y BW, respectivamente.

Esta clasificación de ASV en grupos nos permitiría seleccionar posibles microorganismos que pueden ser objetivos valiosos para intervenciones externas como estrategias nutricionales como los ASV de bajos valores de heredabilidad, mientras que otros con altos valores de heredabilidad podrían considerarse para un uso potencial en programas de selección. La metodología implementada en el análisis representa un avance importante a ser confirmado al expandir las bases de datos de secuencias ruminales, y de gran valor para ser utilizada en emisiones de metano.

Conclusiones y recomendaciones

La implementación de la selección genética como herramienta efectiva de mitigación de GEI es una de las área definidas como claves a nivel internacional, y la cual es considerada dentro de las estrategias de mitigación prevista en las CND de Uruguay. El potencial de contribución estimada es de 1% de reducción anual, acumulativa y permanente. Es una de las pocas estrategias utilizables en la ganadería en pastoreo y con el potencial de equilibrar objetivos de mitigación de metano y productividad ganadera.

En este proyecto se han desarrollado aspectos relevantes para su implementación:

a) mediciones fenotípicas de características no tradicionales como metano, consumo de alimento y eficiencia de conversión, para lo que se generaron protocolos de campo y se capacitaron recursos humanos. Se constituyó una base de datos relevante con información de emisiones de metano realizadas por primera vez

en el país con equipos GreenFeed, cuyo uso está en expansión globalmente. La experiencia obtenida en este proyecto confirma que a pesar de las ventajas de este equipamiento es necesario mejorar la fase de entrenamiento de los animales para lograr mayor cantidad de animales con datos válidos, ya que es una medida voluntaria por parte del animal. Los trabajos realizados contribuyen a avanzar en la interacción con otros grupos a nivel global, como la ya realizada en el marco del Comité Internacional de Registros Animales (ICAR) (Peraza, 2023).

b) inclusión de la microbiota ruminal dado su rol en la emisión de metano como de metabolitos para la producción del hospedero. Se ha ajustado el protocolo para la colecta de líquido ruminal a través de una sonda gástrica oral, que es el método recomendado para aplicación in vivo, implementada con materiales de fácil acceso que ha resultado efectiva y de mínimo estrés para los animales. Además de su aplicabilidad, se evaluó a través de monitoreo del consumo de alimento posterior a la extracción que el mismo tiene un mínimo efecto en el comportamiento ingestivo del animal (Peraza et al., 2025, en revisión).

c) definición y ejecución de los análisis metagenómicos y meta-transcriptómicos de la microbiota ruminal, en asociación con genoma del animal. En primer lugar, la obtención de datos en diferentes dimensiones ómicas: tres formas de capturar diversidad (RE-RRS, shotgun, Hi-C) y adicionalmente la captura funcional de la actividad de los genomas encontrados mediante meta-transcriptómica, permite generar productos publicables originales que aportan a estas áreas del conocimiento. Por otro lado, las técnicas de Hi-C, como indicamos en resultados, generan datos de alta utilidad en los genomas más abundantes en el rumen. Cerca del 50% de los microorganismos más abundantes no son clasificables, pero aquí hemos obtenido tanto genomas con alto grado de armado dentro de los conocidos como los desconocidos. Esto último posibilita generar productos sobre estructura, evolución y funcionalidad de los actores metabólicos más abundantes en el rumen. A su vez, también podría generar productos sobre la actividad de expresión génica en las condiciones estudiadas con mayor profundidad de la alcanzada hoy día en la literatura. A nivel global, los genomas serán incorporados a bases de datos de alcance internacional. Por último y no menos importante, hemos obtenido por primera vez localmente, el plasmidoma, viroma y de resistsoma (resistencias antimicrobiana) en los rúmenes estudiados, abriendo posibilidades a productos publicables y nuevas puertas de investigación en estos campos de alta importancia.

En forma integrada, el análisis combinado de la genómica animal y metagenómica ruminal señalan tiene efecto sobre eficiencia y emisiones, actuando como mediador de los efectos genéticos del hospedero. El conocer la heredabilidad de los ASV, así como la cuantificación de su efecto sobre el fenotipo, permite la identificación de microorganismos con potencial como blancos de intervención, ya sea mediante estrategias nutricionales específicas o su incorporación en programas de mejoramiento genético.

d) caracterización de la asociación fenotípica entre eficiencia de conversión y emisiones de metano. Los resultados obtenidos muestran que la mejora en la eficiencia de conversión de alimento es debida a la reducción del consumo sin afectar el desempeño animal, generando beneficios económicos como ambientales. Si bien la reducción en el consumo está asociada a menores emisiones de metano, la relación no es estrictamente proporcional debido a la influencia de otros factores, como la calidad de la dieta y características individuales de los animales. Las correlaciones moderadas entre eficiencia alimenticia y emisiones de metano coinciden con lo reportado en la literatura, donde la relación entre ambas variables es controversial, dado que la eficiencia de conversión integra procesos no solo digestivos, sino también metabólicos. Estos resultados respaldan la importancia de considerar la eficiencia de conversión como un criterio de selección, como estrategias específicas para mitigar emisiones de metano.

En función de nuestros resultados, observamos que la selección de animales con menores intensidades de emisión de metano representa una estrategia para avanzar hacia una ganadería más sostenible. Al

disminuir el metano emitido por unidad de producto (carne o leche), se contribuye a reducir el impacto ambiental sin comprometer la productividad. Además, animales más eficientes en el uso de la energía del alimento pueden traducirse en mejores índices de conversión y en sistemas productivos más rentables. En este contexto, se recomienda priorizar criterios de selección que integren eficiencia productiva y sostenibilidad ambiental, anticipándose a las futuras demandas de los mercados y regulaciones vinculadas a la huella de carbono.

e) formación y capacitación de técnicos e investigadores en estos temas innovadores para el sector agropecuario. Además de la conformación de un grupo multidisciplinario trabajando en este proyecto, el mismo es la base del doctorado del Lic. Pablo Peraza. Además, se sumaron nuevos integrantes equipo para el análisis del gran volumen de información metagenómica y meta-transcriptómica.

f) presentación de resultados en actividades de difusión al sector agropecuario y elaboración de materiales para revistas técnicas de difusión general. Se realizaron múltiples presentaciones dirigidas al sector productivo, que abarcaron jornadas nacionales de extensión y visitas técnicas hasta la publicación de artículos en revistas nacionales. En dichas publicaciones, además de presentar resultados sobre las variables eficiencia, producción y emisiones de metano (detallado en Anexo 3, se expandió al rol de los estudios metagenómicos (Peraza et al., 2024b) y cómo la infraestructura del Banco de ADN genómico se expande para abarcar también la investigación en microbiota ruminal (Carracelas et al., 2022), expandiendo el uso de herramientas genómicas con aplicación en la investigación en sostenibilidad agropecuaria.

g) interacción con la comunidad científica a través de presentaciones de trabajos en eventos académicos y la participación en proyectos internacionales como Enteric Fermentation Flagship. Ya se publicó en el artículo por Peraza et al. (2024a), además de contar con manuscritos enviados a revistas arbitradas y otros en fase final de elaboración. Cabe destacar el avance y contribución que representa este proyecto para el posicionamiento del país en iniciativas de gran envergadura como la coordinada por el Global Methane Genetics (<https://esgnews.com/es/bezos-earth-fund-global-methane-hub-launch-27-4m-global-program-to-breed-low-methane-livestock/>).

Uno de los desafíos planteados es ampliar la capacidad de medición de emisiones de metano, de manera de poder ampliar las bases de datos que permitan estimar parámetros genéticos precisos. En este sentido, si bien los estudios de asociación entre eficiencia de conversión, consumo y emisiones de metano son alentadores respecto a la posibilidad de aportar a la mitigación de metano, sin comprometer la producción ganadera y sus beneficios para el desarrollo nacional, es necesario estimar dichas asociaciones a nivel genético (correlaciones genéticas). Así mismo, las mediciones de metano en condiciones de pastoreo y su relación fenotípica y genética con el desempeño animal del rodeo de cría, apoyarán el desarrollo de índices de selección para optimizar la mitigación de metano alcanzable, sin comprometer producción.

El rol de la microbiota resulta decisivo y se han realizado avances importantes en cuanto a la incidencia de la dieta y como en las variables de interés. El poder expandir la información de emisiones de metano en conjunto con los datos del microbioma ruminal facilitarán profundizar esta área de investigación, incluso su validación en diferentes dietas, categorías animales y razas. El incremento de la precisión de las estimaciones de valores genéticos por medio de la combinación de genómica animal y metagenómica ruminal, así como con la confirmación de biomarcadores, potencializa mayores progresos genéticos en forma más rentable. La aplicación y mejora de protocolos de extracción de líquido ruminal y procesamiento de muestras, y las capacidades de análisis e investigación generadas en esta área representan una contribución a su expansión futura para mejorar el aporte de la mejora genética a la sustentabilidad

Referencias bibliográficas

- Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, ... & Pevzner PA. 2012. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *Journal of Computational Biology* 19: 455-477.
- Basarab JA, Price MA, Aalhus JL, Okine EK, Snelling WM, Lyle KL. 2003. Residual feed intake and body composition in young growing cattle. *Canadian Journal of Animal Science*. 83 (2): 189–204. <https://doi.org/10.4141/A02-065>
- BIF (Beef Improvement Federation). 2016. Guidelines for uniform beef improvement programs. Carolina del Sur, Estados Unidos. Clemson University. 183p.
- BTR1, 2024. Primer Informe Bienal De Transparencia (1BTR) a la Conferencia de las Partes en la Convención Marco de las Naciones Unidas Sobre El Cambio Climático. 2024. República Oriental Del Uruguay. Disponible en: <https://unfccc.int/sites/default/files/resource/URY-BTR%202024%20-%202024.12.31.pdf> (citado 20 Marzo 2025).
- Carracelas B, Peraza P, Vergara A, Ciappesoni G, Ravagnolo O, Aguilar I, Lema M, Navajas EA. 2022. Banco de ADN genómico animal – plataforma de evaluación genómica. *Revista INIA - Nº 71*, Diciembre, 2022.
- Cantalapiedra-Hijar G, Abo-Ismael M, Carstens GE, Guan LL, Hegarty R, Kenny DA, et al. 2018. Review: Biological determinants of between-animal variation in feed efficiency of growing beef cattle. *Animal* 12(2):321–335. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001489>
- CDN3, 2024. Tercera Contribución Determinada a nivel Nacional al Acuerdo de París. República Oriental Del Uruguay. Diciembre 2024. Disponible en: <https://www.gub.uy/ministerio-ambiente/comunicacion/noticias/uruguay-presento-su-tercera-contribucion-determinada-nivel-nacional> (citado 20 Marzo 2025).
- Dressler EA, Bormann JM, Weaber RL, Rolf MM. 2024. Use of methane production data for genetic prediction in beef cattle: A review. *Translational Animal Science* 8:txae014.
- GMH, 2024. Global Methane Hub. Enteric Fermentation R&D Accelerator. Program Strategy: 2024 – 2030. Disponible en: <https://www.globalmethanehub.org/wp-content/uploads/2024/09/EF-Accelerator-Program-Strategy-2024-2030.pdf>. (citado 20 Marzo 2025).
- González-Recio O, Martínez-Álvaro M, Tiezzi F, Saborío-Montero A, Maltecca C, Roehe R. 2023a. Invited review: Novel methods and perspectives for modulating the rumen microbiome through selective breeding as a means to improve complex traits: Implications for methane emissions in cattle. *Livestock Science* 269:105171. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2023.105171>.
- González-Recio O, Scrobota N, López-Paredes J, Saborío-Montero A, Fernández A, López de Maturana E, Villanueva B, Goiri I, Atxaerandio R, García-Rodríguez A. 2023b. Review: Diving into the cow hologenome to reduce methane emissions and increase sustainability. *animal* 17:100780
- Hess MK, Rowe SJ, Van Stijn TC, Henry HM, Hickey SM, Brauning R, et al. A restriction enzyme reduced representation sequencing approach for low-cost, high-throughput metagenome profiling. *PLoS One*. 2020;15: e0219882.
- Kenny DA, Fitzsimons C, Waters SM, McGee M. 2018. Invited review: Improving feed efficiency of beef cattle – the current state of the art and future challenges. *Animal* 12 (9): 1815-1826. <https://doi.org/10.1017/S1751731118000976>
- Koch RM, Swiger LA, Chambers D, Gregory KE. 1963. Efficiency of Feed Use in Beef Cattle. *Journal of Animal Science* 22(2):486–94.
- Li F, Li C, Chen Y, Liu J, Zhang C, Irving B, Fitzsimmons C, Plastow G, Guan LL. 2019. Host genetics influence

the rumen microbiota and heritable rumen microbial features associated with feed efficiency in cattle. *Microbiome* 7:92. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0699-1>.

Mallick H, Ma S, Franzosa EA, Vatanen T, Morgan XC, & Huttenhower C. 2017. Experimental design and quantitative analysis of microbial community multiomics. *Genome biology* 18: 1-16.

Martínez-Álvaro M, Auffret MD, Duthie C-A, Dewhurst RJ, Cleveland MA, Watson M, Roehe R. 2022. Bovine host genome acts on rumen microbiome function linked to methane emissions. *Communications Biology* 5:350. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03293-0>.

Martinez-Boggio G, Lutz P, Harrison M, Weigel KA, Peñagaricano F. 2025. greenfeedr: An R package for processing and reporting GreenFeed data, *Journal of Dairy Science Communications* 6: 227-230, <https://doi.org/10.3168/jdsc.2024-0662>.

Martinez-Boggio G, Monteiro HF, Lima FS, Figueiredo C, Bisinotto RS, Santos JEP, Mion B, Schenkel FS, Ribeiro ES, Weigel KA, Peñagaricano F. 2024. Host and rumen microbiome contributions to feed efficiency traits in Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 107:3090–3103. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23869>.

Navajas E, Peraza P. 2024 Consumo de alimento, emisiones de metano y producción - rol de la eficiencia de conversión. In: *Jornadas Uruguayas de Buiatría*, 51., 2024. Paysandú, Uruguay. p.60-64.

Navajas EA, Ravagnolo O, De Barbieri I, Pravia MI, Aguilar I, Lema MO, et al. 2022. Genetic selection of feed efficiency and methane emissions in sheep and cattle in Uruguay: progress and limitations. In: *Proceedings of 12th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (WCGALP)*. Rotterdam, the Netherlands: Wageningen Academic Publishers; p. 164–7.

OmicsBox, 2024. OmicsBox,— Bioinformatics made easy. BioBam Bioinformatics. October 8, 2024. www.biobam.com/omicsbox.

Peraza P. 2023. Variations in feed efficiency, intake, and methane emissions among finishing beef cattle. ICAR - Feed and Gas Workshop, May 23rd, 2023. Toledo, Spain. https://www.icar.org/Documents/Toledo-2023/Webinar-on-methane/14_Peraza_20230523_Peraza_PPT_ICAR.pdf

Peraza P, Carracelas B, Ciappesoni G, Navajas E. 2024b. Metagenómica: herramienta de investigación en la microbiota ruminal. *Revista INIA Uruguay*, Marzo 2024, no.76, p.22-26.

Peraza P, Carracelas B, Navajas EA. 2025. Rumen fluid sampling in beef cattle: A practical method with no effect on feed intake. *For Agrociencias Uruguay*, en revisión.

Peraza P, Fernández-Calero T, Naya H, Sotelo-Silveira J, Navajas EA. 2024a. Exploring the linkage between ruminal microbial communities on postweaning and finishing diets and their relation to residual feed intake in beef cattle. *Microorganisms* 12: 2437. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12122437>

Pravia MI, Navajas EA, Aguilar I, Ravagnolo O. 2022. Evaluation of feed efficiency traits in different Hereford populations and their effect on variance component estimation. *Animal Production Science* 62: 1652-1660. <https://doi.org/10.1071/AN21420>

Ranjan R, Rani A, Finn P W, & Perkins D L. 2018. Multiomic strategies reveal diversity and important functional aspects of human gut microbiome. *BioMed Research International*, 2018(1), 6074918.

Sato Y, Sato R, Fukui E. & Yoshizawa F. 2024. Impact of rumen microbiome on cattle carcass traits. *Scientific Reports* 14: 6064.

Tedeschi LO, Abdalla AL, Álvarez C, Anuga SW, Arango J, Beauchemin KA, et al. 2022. Quantification of methane emitted by ruminants: a review of methods. *Journal of Animal Science* 100(7):skac197.

Waters SM, Roskam E, Smith PE, Kenny DA, Popova M, Eugene M, Morgavi DP. The role of rumen microbiome in the development of methane mitigation strategies for ruminant livestock. *Journal of Dairy Science*, in press, <https://doi.org/10.3168/jds.2024-25778>

Westreich ST, Treiber ML, Mills DA, Korf I, & Lemay D.G. 2018. SAMSA2: a standalone metatranscriptome analysis pipeline. *BMC bioinformatics* 19: 1-11.

