



ISSN 1516-7453

Maio, 2011

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Gado de Leite  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

## **Documentos 147**

# **Emissões de metano na pecuária: conceitos, métodos de avaliação e estratégias de mitigação**

*Fernanda Samarini Machado  
Luiz Gustavo Ribeiro Pereira  
Roberto Guimarães Júnior  
Fernando César Ferraz Lopes  
Alexandre Vieira Chaves  
Mariana Magalhães Campos  
Mirton José Frota Morenz*

Embrapa Gado de Leite  
Juiz de Fora, MG  
2011



Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Gado de Leite  
Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Bairro Dom Bosco  
36038-330 – Juiz de Fora – MG  
Fone: (32) 3311-7405  
Fax: (32) 3311-7401  
Home page: <http://www.cnppl.embrapa.br>  
E-mail: [sac@cnppl.embrapa.br](mailto:sac@cnppl.embrapa.br)

Comitê de Publicações da Unidade Responsável  
Presidente: Rui da Silva Verneque  
Secretário-Executivo: Inês Maria Rodrigues  
Membros: Alexandre Magno Brighenti, Alziro Vasconcelos Carneiro, Carla Christine Lange, Carlos Renato Tavares de Castro, Francisco José da Silva Léo, Marcelo Henrique Otenio, Márcia Cristina de Azevedo Prata, Marcos Cicarini Hott, Marcos Vinicius Gualberto Barbosa Silva, Marlice Teixeira Ribeiro, Marta Fonseca Martins Guimarães, Sérgio Rustichelli Teixeira.

Supervisão editorial: Fernanda Samarini Machado  
Editoração eletrônica e tratamento das ilustrações: Carlos Alberto Medeiros de Moura  
Normalização bibliográfica: Inês Maria Rodrigues

**1ª edição**

1ª impressão (2011): 100 exemplares

**Todos os direitos reservados**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais da Catalogação na publicação (CIP)  
Embrapa Gado de Leite

---

Emissões de metano na pecuária: conceitos, métodos de avaliação e estratégias de mitigação / Fernanda Samarini Machado ... [et al.]. – Juiz de Fora : Embrapa Gado de Leite, 2011. 92 p. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 147).

ISSN 1516-7453

1. Metano – estratégias de mitigação. 2. Pecuária - sustentabilidade. 3. Metano entérico - avaliação. 4. Ruminantes – estratégias nutricionais. I. Machado, Fernanda Samarini. II. Pereira, Luiz Gustavo Ribeiro. III. Guimarães Júnior, Roberto. IV. Lopes, Fernando César Ferraz. V. Chaves, Alexandre Vieira. VI. Campos, Mariana Magalhães. VII. Morenz, Mirton José Frota. VIII. Série.

---

CDD 636.2142

© Embrapa 2011

# Autores

## **Fernanda Samarini Machado**

Médica Veterinária, D. Sc. – Embrapa Gado de Leite

Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Bairro Dom Bosco

36038-330 – Juiz de Fora, MG

fernanda@cnppl.embrapa.br

## **Luiz Gustavo Ribeiro Pereira**

Médico Veterinário, D. Sc. – Embrapa Gado de Leite

Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Bairro Dom Bosco

36038-330 – Juiz de Fora, MG

luiz.gustavo@cnppl.embrapa.br

## **Roberto Guimarães Júnior**

Médico Veterinário, D. Sc. – Embrapa Cerrados  
BR 020 Km 18

73310-970 – Planaltina, DF

guimaraes@cpac.embrapa.br



**Fernando César Ferraz Lopes**

Engenheiro Agrônomo, D. Sc. – Embrapa Gado de Leite

Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Bairro Dom Bosco

36038-330 – Juiz de Fora, MG

fernando@cnppl.embrapa.br

**Alexandre Vieira Chaves**

Engenheiro Agrônomo, Ph.D. – University of Sydney

Faculty of Veterinary Science

B19 RMC Gunn Building

Sydney, Austrália

a.chaves@usy.edu.au

**Mariana Magalhães Campos**

Médica Veterinária, D. Sc. – Embrapa Gado de Leite

Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Bairro Dom Bosco

36038-330 – Juiz de Fora, MG

mariana@cnppl.embrapa.br

**Mirton José Frota Morenz**

Zootecnista, D. Sc. – Embrapa Gado de Leite

Rua Eugênio do Nascimento, 610 – Bairro Dom Bosco

36038-330 – Juiz de Fora, MG

morenz@cnppl.embrapa.br



# Apresentação

O impacto ambiental das atividades agropecuárias tem sido muito discutido nos últimos anos, principalmente os causados pela emissão de gases de efeito estufa e sua relação com as mudanças climáticas. Bovinos, ovinos e caprinos naturalmente produzem metano como resultado da fermentação microbiana ruminal. Como o metano é um gás de efeito estufa, tem-se observado críticas frequentes na mídia, que destaca erroneamente a pecuária como a grande poluidora do planeta e, esquece ou omite informações relacionadas à importância da atividade na segurança alimentar, geração de emprego e renda. A estratégia de alimentação dos ruminantes, caracterizada pela presença marcante de fermentação ruminal, é resultante de processo evolutivo de milhares de anos, que garantem às espécies a exploração de alimentos fibrosos, ricos em celulose (pastos, silagem, feno e palhadas), não consumidos pelos humanos, que são transformados em alimentos nobres como o leite e a carne. Diante deste contexto, a Embrapa, em parceria com outras 17 instituições de pesquisa, vem desenvolvendo o projeto RumenGases Brasil, que tem como principal objetivo avançar conceitualmente e desenvolver estratégias para a mitigação de emissões de metano por ruminantes nos trópicos. A pesquisa precisa validar metodologias acuradas de mensuração da emissão de metano, gerar bancos de dados específicos para condições tropicais e desenvolver estratégias de mitigação, seja por melhoria nos sistemas

de produção ou por inclusão de ingredientes alimentares nas dietas dos animais. Este documento aborda aspectos relacionados às emissões de metano entérico pelos ruminantes. O texto contém informações conceituais sobre a formação de metano no rúmen; sobre estratégias de mitigação e aborda de forma sucinta as principais metodologias de avaliação da emissão de metano entérico.

*Duarte Vilela*  
Chefe-geral da Embrapa Gado de Leite

# Sumário

<b>Introdução.....</b>	<b>9</b>
<b>Formação do metano entérico e seu papel no ecossistema ruminal .....</b>	<b>13</b>
<b>Hidrogênio e a produção de metano entérico .....</b>	<b>16</b>
<b>Transferência de H<sub>2</sub> interespecies .....</b>	<b>19</b>
<b>Influência da dieta e dos parâmetros ruminais na formação de metano ...</b>	<b>22</b>
<b>Metano entérico e perdas energéticas .....</b>	<b>26</b>
<b>Estratégias nutricionais de mitigação do metano entérico .....</b>	<b>30</b>
<b>Estratégias de mitigação via rotas alternativas de utilização do H<sub>2</sub>.....</b>	<b>55</b>
<b>Vacinação contra metanogênicas ruminais.....</b>	<b>59</b>
<b>Bacteriófagos e bacteriocinas.....</b>	<b>60</b>
<b>Manejo de pastagens e sistemas de integração .....</b>	<b>62</b>
<b>Metodologias de avaliação da emissão de metano entérico .....</b>	<b>63</b>
<b>Considerações finais .....</b>	<b>67</b>
<b>Referências .....</b>	<b>69</b>







# Emissões de metano na pecuária: conceitos, métodos de avaliação e estratégias de mitigação

*Fernanda Samarini Machado, Luiz Gustavo Ribeiro Pereira, Roberto Guimarães Júnior, Fernando César Ferraz Lopes, Jailton da Costa Carneiro, Alexandre Vieira Chaves, Mariana Magalhães Campos, Mirton José Frota Morenz*

## Introdução

O crescimento da população mundial e do seu poder aquisitivo tem promovido aumento acentuado da demanda por alimentos de origem animal. Projeta-se um aumento na produção mundial de carne de 229 milhões de toneladas em 1999-2001 para 465 milhões de toneladas em 2050, e na produção de leite de 580 para 1.043 milhões de toneladas nesse mesmo período (FAO, 2006). O Brasil ocupa posição de destaque na produção pecuária, sendo importante fornecedor de proteína animal para a população mundial. Atualmente o país possui o maior rebanho comercial bovino, com 171,6 milhões de cabeças (IBGE, 2009) e detém, aproximadamente, 20% do mercado da carne (USDA, 2009), sendo o 6º maior produtor de leite (FAO, 2010).

Apesar da reconhecida importância da agropecuária na produção de alimentos e geração de renda, atualmente muito se discute sobre o impacto ambiental das atividades pecuárias e agrícolas, principalmente relativo às mudanças climáticas. A pecuária brasileira, em especial, vem sendo criticada por emitir quantidades significativas de gases de efeito estufa (GEE). Tal crítica tem sido fundamentada nos baixos índices zootécnicos verificados em sistemas de exploração animal baseados em pastagens degradadas ou que se encontram abaixo do

seu potencial de produção. A ineficiência desse modelo de exploração tem gerado maiores quantidades de GEE por quilo de carne e/ou de leite produzidos (IPCC, 2007).

Dentre os vários GEE, a agropecuária contribui de forma significativa com a emissão de três deles: metano ( $\text{CH}_4$ ), dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) e óxido nitroso ( $\text{NO}_2$ ). O gás metano apresenta potencial de aquecimento global 25 vezes maior que o  $\text{CO}_2$  e tempo de vida na atmosfera de 9 a 15 anos, sendo sua taxa de crescimento anual de 7,0% (IPCC, 2006). A produção de metano resulta da fermentação anaeróbica da matéria orgânica em ambientes alagados, campos de arroz cultivados por irrigação de inundação, fermentação entérica, tratamento anaeróbico de resíduos animais e queima de biomassa.

O metano produzido em sistemas de produção de bovinos origina-se, principalmente, da fermentação entérica (85 a 90%), sendo o restante produzido a partir dos dejetos destes animais. Do metano produzido por fermentação entérica no rúmen, 95% é excretado por eructação, e daquele produzido no trato digestivo posterior, 89% é excretado através da respiração e apenas 11% pelo ânus (MURRAY et al., 1976). O metano derivado da fermentação entérica de ruminantes representa cerca de  $\frac{1}{4}$  das emissões antropogênicas desse gás (WUEBBLES E HAYHOE, 2002). Bovinos produzem de 150 a 420 litros de  $\text{CH}_4$  por dia e ovinos de 25 a 55 L/dia (CZERKAWSKI, 1969; HOLTER E YOUNG, 1992; McALLISTER et al., 1996), o que corresponde a emissões anuais de 39,1 a 109,5 kg e de 6,5 a 14,4 kg, respectivamente. A Índia e o Brasil lideram o ranking mundial de emissão total de metano entérico, com 14,5 e 10,3 Tg de  $\text{CH}_4$ /ano, respectivamente. Quando é considerada apenas a emissão por bovinos, o Brasil é apontado como o maior emissor (9,6 Tg de  $\text{CH}_4$ /ano), seguido da Índia (8,6 Tg de  $\text{CH}_4$ /ano) e dos Estados Unidos da América (5,1 Tg de  $\text{CH}_4$ /ano) (THORPE, 2009). Segundo resultados preliminares do Segundo Inventário Nacional de Emissões de GEE (MCT, 2009), no ano de 2005 a agropecuária foi responsável por 22% do total das emissões de metano no Brasil.

Além de ser caracterizado como um importante GEE, responsável por 15% do aquecimento global, o metano de origem entérica tem relação direta com a eficiência da fermentação ruminal em virtude da perda de carbono e, conseqüentemente, perda de energia, influenciando o desempenho animal (COTTON E PIELKE, 1995). O conhecimento dos mecanismos de síntese de metano e os fatores que afetam sua produção são importantes. O desafio no sistema produtivo de ruminantes é desenvolver dietas e estratégias de manejo que minimizem a produção relativa de metano (metano/kg de leite, carne ou lã), possibilitando maior eficiência produtiva e redução da contribuição negativa da pecuária para o aquecimento global.

A mídia tem rotulado os bovinos como grandes vilões das mudanças climáticas, sendo que, na maioria das vezes, essas críticas não apresentam fundamentação técnico-científica. É urgente a necessidade de desenvolver e validar metodologias acuradas de mensuração da emissão de metano e gerar bancos de dados específicos para os sistemas de produção de cada região (país ou bioma), conforme relatado no primeiro inventário nacional de emissões de GEE de origem antrópica (GRAINGER et al., 2007; LIMA et al., 2006). A exploração equivocada da mídia sobre o assunto pode ser, futuramente, um pretexto para a criação de barreiras não tarifárias à exportação de produtos pecuários brasileiros.

Discussões sobre como reduzir as emissões de GEE têm focado tanto alterações na cadeia de produção e abastecimento de alimentos, como na demanda, por meio de mudanças significativas nos padrões de consumo. Medidas políticas que levam a reduções radicais no consumo de alimentos de origem animal têm sido propostas como meio de reduzir as emissões globais de GEE. Entretanto, a avaliação do impacto climático da produção de diferentes alimentos deve levar em consideração o valor nutricional dos mesmos. Smedman et al. (2010) utilizaram uma unidade funcional, que combina a densidade de nutrientes do alimento com a emissão de GEE na produção dos mesmos, denominada índice de Densidade Nutricional/ Impacto climático (DNIC). Os autores compararam a emissão de GEE

geradas para a produção de leite, refrigerantes, suco de laranja, cerveja, vinho, água mineral gasosa e bebidas de soja e aveia. Para a produção de leite foram gerados para cada 100 g do produto, 99 g de equivalente CO<sub>2</sub>, um dos valores mais elevados quando comparado às demais bebidas. Entretanto, quando a comparação foi realizada levando-se em consideração o DNIC (densidade de nutrientes/emissão de GEE), o leite apresentou vantagem em relação aos demais alimentos, devido ao seu alto valor nutricional (Tabela 1). Esse resultado representa argumento convincente de embate à mídia, que muitas vezes incentiva a redução no consumo de produtos de origem animal como forma de diminuir os impactos ambientais.

**Tabela 1.** Densidade nutricional, em relação ao impacto climático.

Alimento	Porcentagem de NNR em 100 g de produto	Número de nutrientes = 5% da NNR	Densidade nutricional	Emissão de GEE	Índice DNIC
Leite	126	9	53,8	99	0,54
Refrigerante	7	0	0	109	0
Suco de laranja	90	4	17,2	61	0,28
Cerveja	18	0	0	101	0
Vinho tinto	24	1	1,2	204	0,01
Água mineral	2	0	0	10	0
Bebida de soja	53	3	7,6	30	0,25
Bebida de aveia	32	1	1,5	21	0,07

NNR = Recomendações Nórdicas de Nutrição; Índice DNIC = Índice de Densidade Nutricional/Impacto Climático (DNIC = densidade nutricional/emissão de gases de efeito estufa - GEE); Emissão de GEE = emissão de GEE (g de equivalente CO<sub>2</sub> por 100 g de produto); Densidade nutricional = Porcentagem de NNR em 100 g de produto x número de nutrientes  $\geq$  5% da NNR/21.

Fonte: Smedman et al. (2010).

É provável que a agropecuária seja cada vez mais afetada pelas imposições de limitações nas emissões de carbono e pela legislação ambiental. A tendência ou obrigação legal de mitigar as emissões de GEE influenciará diretamente a necessidade de aumento da eficiência zootécnica nos sistemas pecuários, atrelado ao manejo nutricional dos animais a ser adotado. A melhoria das práticas alimentares pode

reduzir a emissão de metano por quilograma de alimento ingerido ou por quilograma de produto. Agentes específicos e aditivos dietéticos têm sido propostos como alternativas para a redução das emissões de metano. O desenvolvimento de estratégias de mitigação e a viabilidade da aplicação prática dessas estratégias são áreas atuais de pesquisa em todo o mundo (THORNTON, 2010).

Objetivou-se com o presente artigo abordar diversos aspectos relacionados às emissões de metano entérico pelos ruminantes, bem como descrever as principais metodologias de avaliação e estratégias de mitigação.

## **Formação do metano entérico e seu papel no ecossistema ruminal**

A fermentação dos componentes dietéticos pela microbiota ruminal resulta na formação de ácidos graxos voláteis (AGVs), usados pelo ruminante como fonte de energia, e produção de gases ( $\text{CO}_2$  e  $\text{CH}_4$ ), eliminados por meio da eructação (MARTIN et al., 2009a).

A fermentação em ruminantes envolve processo oxidativo, gerador de cofatores reduzidos (NADH, NADPH e FADH). Para que o processo fermentativo não seja paralisado, esses cofatores são então re-oxidados ( $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$  e  $\text{FAD}^+$ ) por meio de reações de desidrogenação, liberando hidrogênio no rúmen.

Como processo aceptor de elétrons, a metanogênese remove continuamente o gás Hidrogênio ( $\text{H}_2$ ) do meio. Dessa forma, a formação de metano é essencial para o ótimo desempenho do ecossistema ruminal, porque evita o acúmulo de  $\text{H}_2$  no rúmen, o que poderia levar à inibição da atividade desidrogenase, envolvida na re-oxidação dos cofatores reduzidos. A remoção eficiente do  $\text{H}_2$  do rúmen contribui para o aumento da taxa de fermentação pela eliminação do seu efeito inibitório na degradação microbiana de materiais vegetais (WOLIN, 1979; McALLISTER E NEWBOLD, 2008).

O metano entérico é derivado da atividade das *Archaea* metanogênicas, um grupo microbiano distinto das *Eukarya* (protozoários e fungos) e *Bacteria*, possuindo cofatores (coenzima M, F420 e F430) e lipídeos (ésteres de isopropanil glicerol) únicos. Diante da função central do H<sub>2</sub> no metabolismo, as metanogênicas são extremamente importantes para o funcionamento do rúmen e nutrição animal, apesar de responderem por pequena parte da biomassa microbiana ruminal (JANSSEN E KIRS, 2008).

Como as *Archaea* metanogênicas são responsáveis pela produção de metano nos ruminantes, considerável esforço de pesquisa tem sido direcionado para caracterizá-las (ATTWOOD et al., 2008). A identificação de todo o espectro e diversidade desses microrganismos é condição *sine qua non* para o desenvolvimento de estratégias de mitigação da emissão de metano entérico. O sequenciamento de seus genomas fornecerá importantes informações que indicarão os alvos mais adequados para estratégias mitigadoras (BUDDLE et al., 2010).

Na complexa comunidade microbiana do trato gastrointestinal, muitos outros microrganismos exercem importante influência na produção de metano, seja por proporcionar ambiente adequado para a sobrevivência das metanogênicas ou por produzir substratos utilizados pelas mesmas. As vias metabólicas envolvidas na formação de hidrogênio, bem como as relações interespecíficas da população metanogênica com os demais microrganismos do ecossistema ruminal, são importantes fatores que devem ser considerados no desenvolvimento de estratégias para o controle da emissão de metano por ruminantes.

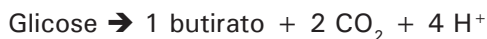
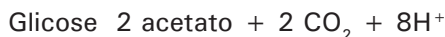
O H<sub>2</sub> produzido durante a fermentação microbiana do alimento é usado como fonte de energia pelas *Archaea* metanogênicas, que produzem metano. O formato também pode ser utilizado pelas metanogênicas, mas é menos importante como precursor do metano do que o H<sub>2</sub>, contribuindo com aproximadamente 18% da produção (HUNGATE et al., 1970). O ciclo de formação do metano pelas *Archaea* metanogênicas a partir do CO<sub>2</sub> envolve a captação de quatro moléculas de H<sub>2</sub>:



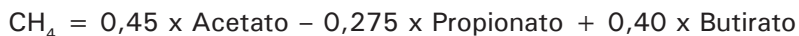
As archaeobactérias são também capazes de utilizar o H<sub>2</sub> na redução de moléculas de acetato, metilamina e metanol para a produção de metano (MOSS, 1993; WOLIN et al., 1997).

Os diferentes produtos formados durante a fermentação ruminal (AGVs) não são equivalentes em termos de liberação de H<sub>2</sub>. Portanto, a quantidade de H<sub>2</sub> livre liberado no rúmen depende da concentração e proporções relativas de acetato, propionato e butirato produzidos (OWENS E GOETSCH, 1988; EUN et al., 2004; MARTIN et al., 2009a). Existem modelos matemáticos quantitativos que propõem cálculos estequiométricos da fermentação para balancear a formação de H<sub>2</sub>, ácidos graxos voláteis e outros produtos, na tentativa de prever a formação de metano (BANNINK et al., 2006; ELLIS et al., 2008a).

A produção de acetato e butirato, predominante durante a fermentação de carboidratos fibrosos, resulta em liberação líquida de H<sub>2</sub> e favorece a metanogênese. Já a formação de propionato é uma via competitiva de utilização de H<sub>2</sub> no rúmen, reduzindo a disponibilidade de substrato para a metanogênese. Assim, a produção de metano, depende do balanço de H<sub>2</sub> no rúmen, sendo influenciada pelas taxas de produção de acetato e propionato (HEGARTY, 2001), como descrito por Van Soest (1994):



De acordo com a estequiometria de produção dos AGVs, percebe-se o efeito negativo do propionato sobre a metanogênese, devido à competição pelo mesmo substrato (MOSS et al., 2000), gerando uma relação expressa como:



## Hidrogênio e a produção de metano entérico

A quantidade absoluta de  $\text{CH}_4$  formado por animais consumindo diferentes dietas está relacionada a características inerentes ao alimento, incluindo a natureza e quantidade de alimento, a extensão de sua degradação, e a quantidade de  $\text{H}_2$  formado (JOHNSON E JOHNSON, 1995; PELCHEN E PETERS, 1998; JANSSEN, 2010). De forma geral, o aumento da taxa de digestão do alimento está associado ao aumento da taxa de passagem no rúmen. Também está associado a uma menor produção de  $\text{CH}_4$  por unidade de alimento digerido no rúmen (JANSSEN, 2010). O *pool* total de  $\text{H}_2$  no rúmen é pequeno, e a concentração de  $\text{H}_2$  dissolvido é, aproximadamente, de 0,1-50  $\mu\text{M}$ , que é 0,014 a 6,8% da sua máxima solubilidade a 39°C e pressão de 1 atm (JANSSEN, 2010).

A pressão parcial de  $\text{H}_2$  (ou concentração de  $\text{H}_2$  dissolvido) tem efeito bem estabelecido sobre as vias de fermentação que utilizam ou produzem esse gás. Em coculturas com microrganismos utilizadores de  $\text{H}_2$ , os microrganismos produtores de  $\text{H}_2$  geram maior quantidade desse gás por unidade de carboidrato fermentado se a pressão parcial de  $\text{H}_2$  é baixa (WOLIN, 1976; REES et al., 1995; MORVAN et al., 1996). Em altas concentrações de  $\text{H}_2$ , a formação de mais  $\text{H}_2$  pode tornar-se termodinamicamente desfavorável, ou a mudança de energia livre da transformação do substrato através de vias de produção de  $\text{H}_2$  pode ser menos favorável do que a transformação em outros produtos (JANSSEN, 2010).

Heijnen e van Dijken (1992) e Heijnen et al. (1992) propuseram uma descrição termodinâmica de produção de biomassa a partir de substratos (fonte de energia), baseada no Modelo da Dissipação de Energia de Gibbs, ou seja, mudança de energia livre,  $\Delta G_T$ . O modelo proposto por Gibbs sugere que a quantidade de biomassa formada a partir de um substrato é determinada pela  $\Delta G_T$ , ou seja, a mudança de energia livre entre reagentes e produtos. Uma dada população de



células, metabolizando um substrato sob condições com determinada  $\Delta G_T$ , irá produzir mais biomassa (mais células) do que outra população metabolizando o mesmo substrato por meio de uma via com  $\Delta G_T$  menos negativa (ou seja, com menor liberação de energia livre).

Westerhoff e van Dam (1987) propuseram que a taxa de metabolismo está relacionada à mudança de energia livre da transformação do substrato pelo microrganismo. Ambas, a taxa de metabolismo do substrato para produzir energia metabolicamente útil, e a quantidade de biomassa capaz de ser formada a partir do substrato, determinarão a taxa de crescimento ( $\mu$ ) de um microrganismo (ou seja, a taxa com que novas células são formadas). Isso implica que  $\mu$  está relacionada ao  $\Delta G_T$  para um dado substrato, e aquelas espécies metabolizando um substrato por uma via que resulta em  $\Delta G_T$  mais negativo, irão ultrapassar as outras utilizando via com  $\Delta G_T$  menos negativo (JANSSEN, 2010). Portanto, pode-se esperar que aquelas espécies que utilizarem vias de fermentação com  $\Delta G_T$  mais negativo, irão dominar a comunidade sob quaisquer condições. Essa é a base pela qual metanogênicas competem com as acetogênicas pelo  $H_2$  (CONRAD et al., 1986; CORD-RUWISCH et al., 1988; UNGERFELD E KOHN, 2006).

As mudanças de  $\Delta G_T$  das diferentes vias de fermentação da glicose são influenciadas pela concentração de  $H_2$  no rúmen, sendo que algumas vias são mais afetadas do que outras. O  $\Delta G_T$  é mais negativo (ou seja, mais energia é liberada e disponibilizada para acoplar a processos relacionados ao crescimento) para vias de formação de  $H_2$  em condições de baixas comparadas às de altas concentrações desse gás. Em contraste, vias que não resultam em formação de  $H_2$  não são influenciadas por sua concentração no meio. Essa análise sugere que a formação de butirato +  $H_2$  ou acetato + butirato +  $H_2$  serão as vias mais favoráveis em baixas concentrações de  $H_2$ , enquanto que a formação de acetato + propionato deve ser favorecida por altas concentrações desse gás. A consequência do efeito da concentração de  $H_2$  sobre a termodinâmica da fermentação é que, sob condição em que a concentração desse gás

no rúmen é elevada, sua produção torna-se desfavorável e as vias de formação de propionato são as mais favorecidas (JANSSEN, 2010).

Proteínas são também fermentadas no rúmen, com consequente produção de metano. Entretanto, mudanças na concentração de  $H_2$  não favorecem vias alternativas de fermentação de aminoácidos da mesma forma que favorecem diferentes vias de fermentação de glicose. Portanto, variações nas condições ruminais que têm algum efeito sobre a metanogênese e concentrações de  $H_2$  não terão grande impacto sobre a formação de  $H_2$  e metano a partir da fermentação de proteína, como terão a partir da fermentação de carboidratos (JANSSEN, 2010).

As relações entre a concentração de  $H_2$  e a cinética de crescimento das *Archaea* metanogênicas, e os efeitos do  $H_2$  na termodinâmica de fermentação são prontamente compreendidas quando aplicadas a um sistema homogêneo. Entretanto, o rúmen é um sistema dinâmico e heterogêneo (CZERKAWSKI, 1986), apresentando grande número de pequenos microambientes transitórios. Em cada microambiente, os microrganismos ruminais estão degradando alimento, produzindo  $H_2$  e convertendo-o em  $CH_4$ . Em alguns, a produção e utilização de  $H_2$  estarão estreitamente acopladas, e a concentração desse gás será baixa, devido à atividade das metanogênicas. Em outros, a rápida fermentação dos nutrientes alimentares resultará em concentração elevada de  $H_2$ . Em todo rúmen, a extensão de tempo com que cada um desses pequenos sistemas existe e a relativa abundância de microambientes com alta *versus* baixa concentração de  $H_2$ , determinarão o balanço entre as vias que produzem diferentes quantidades desse gás e a seleção de espécies de microrganismos que crescem melhor em baixas ou altas concentrações do mesmo. Assim, o grau com que mudanças nos microambientes ocorrem será modelado pelo tempo que os microrganismos têm para alterar seus padrões de fermentação, bem como aquele que a microbiota leva para ser modificada. O balanço líquido da taxa de crescimento das metanogênicas no rúmen controla a concentração média de  $H_2$  nesse ambiente. A soma de todas essas mudanças determina a quan-

tidade líquida de  $H_2$  formada e, portanto, a quantidade líquida de  $CH_4$  produzida por unidade de alimento consumido (JANSSEN, 2010).

## Transferência de $H_2$ interespécies

As *Archaea* metanogênicas estão na base da cadeia trófica microbiana e utilizam como substratos os produtos finais da fermentação. A captura do  $H_2$  produzido por uma determinada espécie ruminal por outra é normalmente referido como transferência de  $H_2$  interespécies (WOLIN et al., 1997), sendo um processo que, em muitos casos, envolve uma relação simbiótica entre dois microrganismos.

Os microrganismos fibrolíticos exercem papel central no ecossistema ruminal. De fato, eles estão no primeiro nível da cadeia trófica microbiana, transformando os polissacarídeos da parede celular dos alimentos em AGVs,  $CO_2$  e  $H_2$ . A maior parte dos microrganismos fibrolíticos produz  $H_2$  como principal produto final da fermentação que, por sua vez, sob condições fisiológicas normais, é rapidamente utilizado pelas metanogênicas (MORGAVI et al., 2010).

O metabolismo de duas espécies ruminais importantes na degradação de carboidratos fibrosos (*Ruminococcus albus* e *R. flavefaciens*) é influenciado pela pressão parcial de  $H_2$  no rúmen e, portanto, pela atividade das metanogênicas. O sistema de transferência de  $H_2$  interespécies acopla a reação oxidativa da espécie celulolítica *R. albus* com a reação redutora da comunidade *Archaea* metanogênica. (Figura 1). Em monocultura, as bactérias *R. albus* produzem etanol, acetato,  $H_2$  e  $CO_2$ . Quando em cocultura com metanogênicas, o NADH é utilizado para reduzir prótons a  $H_2$ , dando origem a acetato e  $CH_4$  como produtos finais. Dessa forma, a formação de etanol é evitada, levando à maior produção de ATP por unidade de hexose fermentada (WOLIN E MILLER, 1988).

Os efeitos da diversidade de espécies das comunidades microbianas fibrolíticas (produtores e não produtores de  $H_2$ ) sobre a produção de metano têm sido investigado. A incubação *in vitro* do conteúdo ruminal de

cordeiros gnotobióticos indicou maior produção de metano pelo inóculo contendo microrganismos fibrolíticos produtores de  $H_2$  (*Ruminococci* ou fungos) do que por aquele contendo microrganismos fibrolíticos não produtores de  $H_2$  (*Fibrobacter*) (CHAUCHERYAS-DURAND et al., 2008). Morvan et al. (1996) observaram correlação positiva entre o número de bactérias fibrolíticas e o de microrganismos metanogênicos no rúmen de vários animais, incluindo bovinos, ovinos, lhamas e veados, e no ceco de equinos. Tal correlação foi encontrada porque as principais espécies fibrolíticas, tais como *R. albus* e *R. flavefasciens*, produzem  $H_2$  como principal produto da fermentação. Em contraste, os mesmos autores relataram que no rúmen de búfalos, o número de microrganismos metanogênicos foi comparativamente menor do que o de bactérias fibrolíticas. Tal fato pode ter ocorrido porque nestes animais as bactérias *Fibrobacter*, as quais não produzem  $H_2$ , eram os microrganismos fibrolíticos predominantes no rúmen (MORVAN et al., 1994).

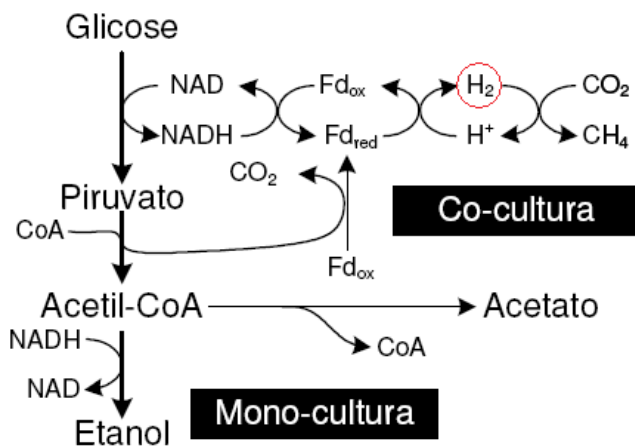


FIGURA 1. Fermentação de carboidratos por *Ruminococcus albus* na presença e na ausência de metanogênicas.

Fonte: Adaptado de Hobson (1988).

No rúmen, as *Archaea* metanogênicas têm sido encontradas intimamente associadas aos protozoários, e essa adesão parece ser reversível (STUMM et al., 1982; TOKURA et al., 1997). Os protozoários ciliados do rúmen são metabolicamente muito ativos, capazes de influenciar

a fermentação de alimentos e outras populações microbianas ruminais e, conseqüentemente, afetar a quantidade e proporção de produtos finais da fermentação ruminal, incluindo metano (WILLIAMS E COLEMAN, 1992; EUGÈNE et al., 2004). Mais de 37% do metano derivado do rúmen pode ser produzido por metanogênicas associadas a protozoários (FINLAY et al., 1994; NEWBOLD et al., 1995).

Protozoários engolfam matéria orgânica, particularmente bactérias, dentro de vacúolos digestivos, onde a hidrólise e fermentação acontecem. Os principais AGVs produzidos são acetato e butirato (WILLIAMS E COLEMAN, 1992). Os protozoários contribuem para a metanogênese por meio do fornecimento de  $H_2$  produzido durante a fermentação dos carboidratos, servindo de hospedeiros para cerca de 30% das *Archaea* metanogênicas (JOUANY, 1996), e protegendo-as da toxicidade do  $O_2$  (MORGAVI et al., 2010). O  $H_2$  é produzido em grande quantidade pelos protozoários em organelas equivalentes às mitocôndrias dos eucariotas aeróbicos: o hidrogenossoma. Esse  $H_2$  é utilizado pelas metanogênicas que estão dentro ou em estreita associação com as células protozoárias (STUMM et al., 1982; FINLAY et al., 1994)

A associação somática das metanogênicas com protozoários ciliados representa típica relação simbiótica de transferência de  $H_2$  interespecies, em que ambos são favorecidos. As metanogênicas, por utilizarem o  $H_2$  produzido pelos ciliados, favorecem a manutenção de ambiente ruminal adequado ao desenvolvimento desses microrganismos (PEDREIRA et al., 2005), permitindo que a fermentação da matéria orgânica seja direcionada mais para a produção de acetato e  $CO_2$  em detrimento de butirato e lactato, o que resulta em maior eficiência na produção de ATP pelo protozoário hospedeiro (MORGAVI et al., 2010). A extensão da associação entre metanogênicas e protozoários é influenciada pela dieta e pelo tempo após alimentação (TOKURA et al., 1997).

## Influência da dieta e dos parâmetros ruminais na formação de metano entérico

Em altas concentrações de  $H_2$ , menor quantidade desse gás será formada, já que as vias que produzem menos  $H_2$  serão favorecidas. A concentração de  $H_2$  no rúmen será elevada nas seguintes situações:

- (I) Após a alimentação e quando alimentos prontamente degradados são rapidamente digeridos;
- (II) Quando a concentração de  $H_2$  requerida para manter a taxa de crescimento das metanogênicas no rúmen for elevada, tal como: rápida taxa de passagem e baixo pH ruminal;
- (III) Quando inibidores de metano estão presentes.

A seguir, esses tópicos são abordados e a influência dos mesmos sobre a metanogênese é ilustrada na Figura 2.

### **Após a alimentação e quando alimentos prontamente degradados são rapidamente digeridos**

A proporção de metano como produto do metabolismo ruminal é mais baixa logo após a alimentação, e aumenta com o tempo. Ao contrário, as concentrações de  $H_2$  aumentam após a alimentação e, pode-se esperar que a elevada concentração de  $H_2$  resultará em mudança para vias com menor produção desse gás e maior de propionato. À medida que o alimento é digerido, e as concentrações de  $H_2$  reduzem-se, as vias de produção desse gás tornam-se novamente favoráveis, fazendo com que a produção de propionato decresça e a de metano aumente (JANSSEN, 2010).

Em condições favoráveis à elevação nas concentrações de  $H_2$  no meio por longos períodos, esperaram-se mudanças na estrutura da comunidade microbiana. Isso porque microrganismos que são consistentemente mais competitivos (ou seja, que utilizam vias com  $\Delta G$  mais negativo para produzir mais biomassa), eventualmente dominam o rúmen. Nessas condições, ocorrem mudanças nas vias de fermentação, que

resultam em menor produção de metano, e menor ou menos ativa população de metanogênicas. Esse fato justifica os resultados encontrados por Van Kessel e Russel (1996), em que vacas alimentadas com dietas baseadas em grãos apresentaram população de metanogênicas menor ou menos ativa.

**Quando a concentração de  $H_2$  requerida para manter a taxa de crescimento das metanogênicas no rúmen for elevada, tal como: rápida taxa de passagem e baixo pH ruminal**

A taxa de passagem de sólidos no rúmen é mais lenta do que a da fase líquida, e mais de 95% da biomassa microbiana de ruminantes alimentados com forragem está associada a partículas (CZERKAWSKI, 1986). Menor taxa de crescimento é necessária para os microrganismos aderidos manterem-se no rúmen, visto que são removidos mais lentamente do que microrganismos não aderidos (McALLISTER et al., 1994).

O genoma da espécie *Methanobrevibacter ruminantium* contém genes codificadores de proteínas e polissacarídeos que podem estar envolvidos na aderência a superfícies (LEAHY et al., 2010). Aderindo-se às partículas no rúmen, as metanogênicas poderão crescer a uma taxa menor, ou seja, o suficiente para manter o ritmo com a taxa de passagem dos sólidos, ao invés de se adequarem ao rápido fluxo da fase líquida. Taxa de crescimento mais lento resulta em menor concentração estacionária de  $H_2$ , o que pode aumentar a produção desse gás, pelo fato das vias de sua formação serem termodinamicamente mais favoráveis. Consequentemente, isso proporciona aumento da formação de metano. Metanogênicas que não aderem a partículas sólidas têm que crescer a uma taxa mais elevada para manterem-se no rúmen, o que pode não ser possível se as metanogênicas aderidas reduzirem a concentração de  $H_2$  a tal nível em que elevadas taxas de crescimento não sejam possíveis (JANSSEN, 2010).

A produção de metano por ovinos foi negativamente correlacionada com a taxa de passagem (PINARES-PATIÑO et al., 2003), o que pode ser explicado não só pela redução na fermentação ruminal do alimento,

mas também porque taxas de passagem elevadas levam ao aumento das concentrações de  $H_2$  dissolvido, resultando em menor formação de metano e maior de propionato.

Se as *Archaea* metanogênicas são capazes de se manterem no rúmen a uma taxa de crescimento mais lenta, por meio da adesão a protozoários, então essa seria uma vantagem quando a taxa de passagem é elevada como, por exemplo, em dietas ricas em concentrado. Entretanto, essa estratégia será menos importante quando a taxa de passagem for mais baixa, quando dietas baseadas em forragem são fornecidas. Além disso, dietas baseadas em forragem proporcionam às metanogênicas muitas outras superfícies com maior tempo de retenção para que elas possam se aderir. É possível que, na presença de protozoários, metanogênicas colonizadoras possam crescer mais lentamente e então reduzir a concentração de  $H_2$  do meio, de modo que as vias de fermentação de formação de  $H_2$  são favorecidas e mais metano é produzido. Defaunação em ruminantes alimentados com dietas baseadas em grãos resultou na redução da produção de metano, mas as diferenças foram muito menores para dietas baseadas em forragem (HEGARTY et al., 2008; BIRD et al, 2008).

Em geral, a queda do pH ruminal está associada a taxas de passagem elevadas, menor formação de metano, aumento da proporção de propionato no total de AGVs, e maiores concentrações de  $H_2$ . Dependendo do tipo de dieta e do tempo após alimentação, o pH do líquido ruminal sob condições fisiológicas normais, varia de 5,6 a 6,7 (KOLVER E VETH, 2002). Na extremidade mais ácida desse intervalo, as metanogênicas ruminais são parcialmente inibidas, e sua população é menor ou elas são menos ativas. O pH ótimo para o crescimento das metanogênicas está dentro da faixa de 6,0 a 7,5, e o limite mais baixo está entre 5,5 e 6,5. Isso significa que as taxas mais elevadas de crescimento são alcançadas nos valores de pH ruminal próximos da neutralidade, e a taxa de crescimento

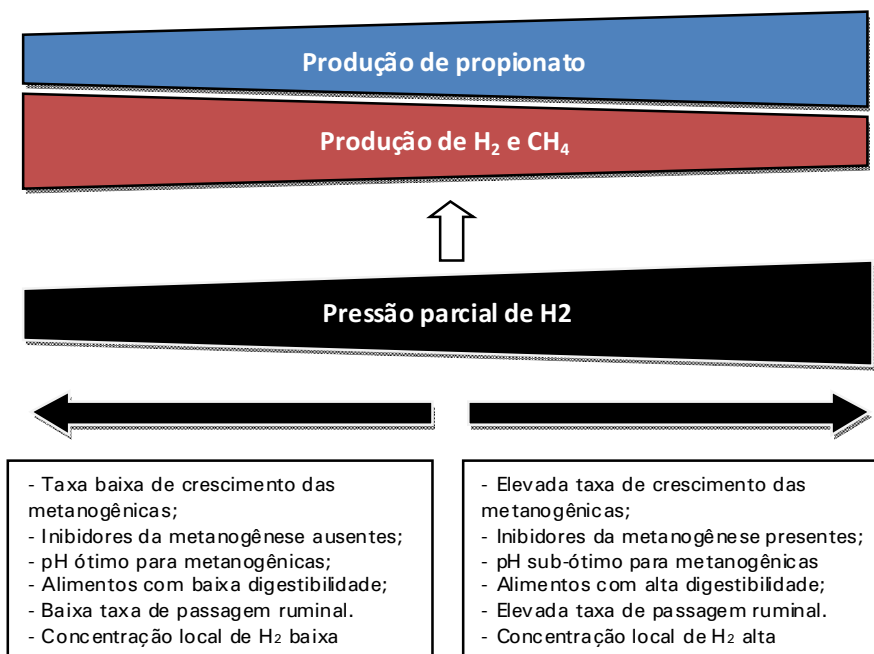


cairá à medida que o pH é reduzido. Consequentemente, a concentração de  $H_2$  requerida pelas metanogênicas para atingirem a taxa de crescimento necessária para manter sua população no rúmen, em uma dada taxa de passagem, será maior quando o pH está sub ótimo. Portanto, em valores de pH mais ácidos, a concentração de  $H_2$  dissolvido deve ser maior em qualquer taxa de passagem. Como consequência das elevadas concentrações de  $H_2$  no rúmen quando as metanogênicas estão crescendo em condições sub ótimas, ocorre queda na produção líquida de  $H_2$  pelos microrganismos fermentadores, reduzindo a formação de  $CH_4$ , a qual é determinada pela quantidade de  $H_2$  que passa através do *pool* de  $H_2$  dissolvido no meio ruminal (JANSSEN, 2010).

### **Quando inibidores de metano estão presentes**

Inibidores de metanogênicas reduzem a taxa de crescimento desses microrganismos de maneira semelhante aos efeitos do baixo pH. Geralmente, a formação de metano é apenas parcialmente inibida e maior pressão parcial de  $H_2$  será necessária para que as metanogênicas mantenham qualquer taxa de crescimento. Com o aumento da concentração de  $H_2$  observa-se maior formação de propionato. Tais inibidores incluem gorduras e óleos, certos extratos de plantas, óleos essenciais, taninos, entre outros. A utilização desses inibidores como estratégia de mitigação será abordada no tópico *Estratégias nutricionais de mitigação*.

Se a quantidade de inibidor presente no rúmen impede que as metanogênicas atinjam a taxa de crescimento necessária, ou seja, acima da taxa de diluição, sua população será completamente “lavada”. Como consequência, a concentração de  $H_2$  no rúmen atingirá níveis muito elevados (JANSSEN, 2010). Tal efeito é observado para o uso de hidrocarbonetos clorados, os quais praticamente cessam a produção de metano, resultam em aumento da pressão parcial de  $H_2$  no rúmen, e promovem mudança acentuada para maior produção de propionato (DENMAN et al., 2007; GOEL et al., 2009).



**FIGURA 2.** Respostas observadas na produção ruminal de metano e propionato em função da dieta e parâmetros ruminais. A concentração de H<sub>2</sub> dissolvido (pressão parcial) controla as quantidades de H<sub>2</sub> (e então de metano) e propionato formadas por unidade de alimento fermentado, por meio da sua influência sobre a termodinâmica das diferentes vias de fermentação que ocorrem no rúmen.

**Fonte:** Adaptado de Janssen (2010).

## Metano entérico e perdas energéticas

Com teor energético de 55,22 MJ/kg (BROUWER, 1965), o metano representa significativa perda de energia pelo sistema de produção (Tabela 2).

Aproximadamente, 5,5 a 6,5% da energia bruta ingerida é convertida a metano (JOHNSON E WARD, 1996). Entretanto, mensurações realizadas em câmaras respirométricas (calorimetria indireta) mostraram grande variação na emissão de metano, de 2 a 12% da energia bruta ingerida (JOHNSON E JOHNSON, 1995). Geralmente, à medida que a

digestibilidade da dieta aumenta, ocorre maior variação na produção de metano (Figura 3).

**Tabela 2.** Variações típicas nas emissões de metano por três classes de ruminantes, energia perdida como CH<sub>4</sub> e estimativa de dias perdidos de pastejo efetivo anual.

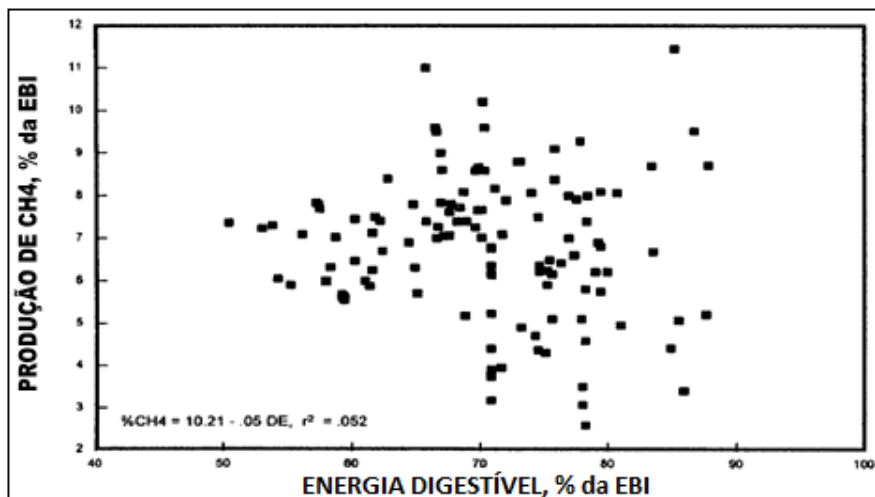
Classe animal	Peso vivo médio (kg)	CH <sub>4</sub> (kg/cab/dia)	MJ de CH <sub>4</sub> perdido/cab/dia <sup>a</sup>	Exigência de energia diário (MJ/cab/dia) <sup>b</sup>	Dias perdidos de pastejo efetivo anual <sup>c</sup>
Ovino adulto	48	10-13	1,5-2,0	13	43-55
Novilho de corte	470	50-90	7,6-13,6	83	33-60
Vaca de leite	550	91-146	13,6-22,1	203	25-40

<sup>a</sup>Assumindo densidade energética de 55,22 MJ/kg de CH<sub>4</sub> (BROUWER, 1965);

<sup>b</sup>Standing Committee on Agriculture (1990);

<sup>c</sup>Dias perdidos de pastejo efetivo anual = (perda de energia/exigência diária) x 365,25.

Fonte: Eckard et al. (2010).



**FIGURA 3.** Produção de metano (% da Energia Bruta ingerida) versus Energia Digestível (% da Energia Bruta ingerida).

Fonte: Johnson e Johnson (1995).

Segundo Johnson e Johnson (1995), existem duas causas principais para esta variação na produção de metano: quantidade de carboidratos fermentados no rúmen, e proporções relativas de propionato e de acetato produzidos.

Embora seja reconhecido que a composição da dieta afeta a contribuição dos ruminantes para a produção de GEE, o Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas, responsável pelo desenvolvimento de metodologias para estimar inventários de emissão global, apenas faz diferenciação entre duas dietas (IPCC, 2006):

- Dietas com mais 90% de concentrado: taxa de conversão de  $\text{CH}_4$  de 3% da EB ingerida e;
- Dietas com menos de 90% de concentrado: taxa de conversão de  $\text{CH}_4$  de 6,5% da EB ingerida.

Esse critério pode não estar condizente com as condições observadas nos sistemas de produção de ruminantes instalados no Brasil, onde dificilmente são observados níveis de inclusão de mais de 90% de concentrado na dieta e, talvez a amplitude de 0 a 90% de concentrado seja pouco específica para a maior parte do manejo adotado para o rebanho de ruminantes no país.

Avaliando a produção de  $\text{CH}_4$  em novilhos de corte alimentados com dietas exclusivamente à base de forragem ou com 80% de concentrado, Harper et al. (1999) verificaram que 8,1 e 2,1% da energia bruta ingerida foi perdida como metano, respectivamente. Segundo Kaharabata et al. (2000), uma vaca leiteira pesando, aproximadamente, 600 kg pode apresentar produção total variando de 268 a 450 g de  $\text{CH}_4$ , sendo a energia perdida na forma de metano (13,344 kcal/g) suficiente para produzir 4,55 e 7,65 kg de leite com 4% de gordura, respectivamente. Johnson et al. (1994) observaram produção de  $\text{CH}_4$  de 256 L/dia em novilhos (9,1% da EB ingerida), 193,9 L/dia para novilhas (5,6% da EB) e 548,2 L/dia (5,7% da EB) para vacas em lactação.

Dentre as formas de se expressar a produção de metano entérico, é im-

portante considerar a produção por unidade de produto animal formado (kg de leite, de carne, ou de lã). Com esta forma de expressão, pode ser estabelecido equilíbrio entre a necessidade de produção de alimento para a crescente população e a emissão de GEE, além de evitar que sistemas de produção eficientes sejam penalizados. Portanto, a redução da produção de metano entérico sem prejudicar a produtividade animal é desejável, tanto como uma estratégia de mitigar a emissão total de GEE, como também de melhorar a eficiência de conversão alimentar dos ruminantes.

A eficiência dos sistemas brasileiros é passível de melhorias, ou seja, há ainda potencial para aumentar a quantidade de produto final, mantendo ou reduzindo a emissão de GEE. Conforme estimativas realizadas por Barioni et al. (2007), o aumento da taxa de natalidade de bovinos de 55 para 68%, a redução na idade de abate de 36 para 28 meses e a redução na mortalidade até 1 ano de 7% para 4,5%, permitiria que em 2025 as emissões de metano em relação ao equivalente carcaça produzido fossem reduzidas em 18%. Isso seria possível mesmo com o aumento estimado em 25,4% na produção de carne. Ou seja, toda ação que melhore a eficiência do sistema de produção reduz proporcionalmente a emissão de metano, uma vez que mais produto (carne, leite, lã, etc.) será produzido em relação aos recursos utilizados (GUIMARÃES JR. et al., 2010).

Yan et al. (2010) avaliaram dados obtidos em 20 estudos de metabolismo energético, realizados em câmaras respirométricas de fluxo aberto, envolvendo 579 vacas em lactação, com variação no mérito genético, número e fase da lactação e peso vivo. Os autores estudaram as taxas de emissão de metano entérico em relação a variáveis de eficiência de utilização de energia e de produtividade animal. Os resultados indicaram que a perda de energia na forma de  $\text{CH}_4$  como proporção da energia bruta (EB) ingerida ou da energia do leite, foi negativamente relacionada aos níveis de produção leiteira, metabolizabilidade da energia (q) e eficiência de utilização da energia metabolizável para lactação ( $K_l$ ). Portanto, a seleção de vacas leiteiras com elevados níveis de produção

e eficiência de utilização de energia representa estratégia eficiente de mitigação.

## Estratégias nutricionais de mitigação do metano entérico

O composto de importância crítica para o ecossistema ruminal é o  $H_2$  produzido principalmente durante a fermentação das forragens. No rúmen, para que a degradação dos nutrientes da dieta ocorra normalmente, levando à formação de AGVs, é necessário que a pressão de  $H_2$  mantenha-se reduzida, permitindo a re-oxidação do NADH. No rúmen, esse processo ocorre por meio da metanogênese. Desta forma, a manipulação do  $H_2$  no rúmen é a chave para controlar a emissão de metano (JOBLIN, 1999).

De acordo com Martin et al. (2009a), as vias metabólicas envolvidas na formação e utilização do  $H_2$ , bem como a população metanogênica são importantes fatores que devem ser levados em consideração no desenvolvimento de estratégias para controlar a emissão de metano por ruminantes. Qualquer estratégia adotada deve ter como foco um ou mais dos objetivos listados abaixo e representados na Figura 4:

- Redução da produção de  $H_2$  sem prejudicar a digestão dos alimentos;
- Estimulação da utilização do  $H_2$  por meio de vias de produção de produtos alternativos benéficos para o ruminante;
- Inibição das *Archaeae* metanogênicas (número e/ou atividade), com concomitante estímulo de vias que consomem  $H_2$  para evitar os efeitos negativos do aumento da pressão parcial de  $H_2$  no rúmen.

A estratégia de mitigação mais bem sucedida deve possibilitar aumento rentável da produção de leite e/ou carne, como também promover redução persistente da emissão de metano entérico (GRAINGER et al., 2010a).

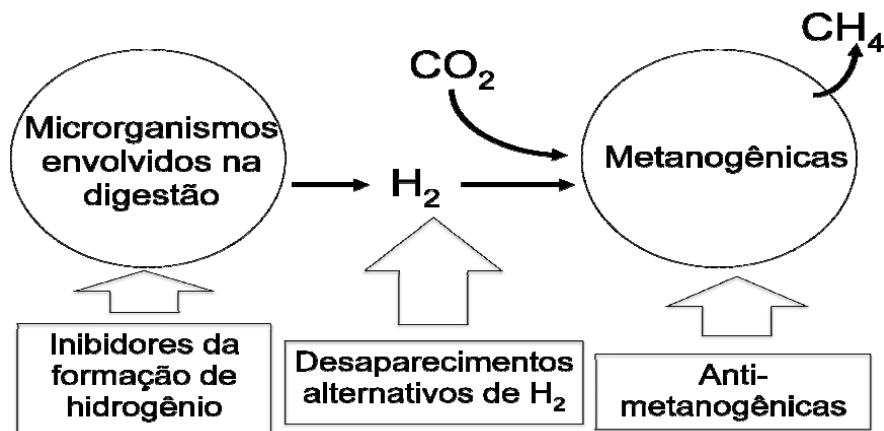


FIGURA 4. Possíveis locais de manipulação microbiana para redução da emissão de metano por ruminantes.

Fonte: Joblin (1999).

## Composição e qualidade da dieta

### A - Concentrado

Sabe-se que o aumento na quantidade de concentrado na dieta reduz a proporção da energia dietética convertida para metano (BLAXTER E CLAPPERTON, 1965). Ou seja, a adição de concentrado promove redução da emissão de metano como proporção da energia ingerida ou expressa por unidade de produto animal (leite e/ou carne).

A substituição de carboidratos fibrosos (celulose e hemiceluloses) por carboidratos não fibrosos (amido e açúcares) resulta em significativas modificações nas condições físico-químicas do rúmen e população microbiana. O desenvolvimento de bactérias amilolíticas resulta em mudança na produção de AGVs, promovendo aumento da proporção de propionato e redução de acetato. Conseqüentemente, há queda na produção de metano devido à redução da disponibilidade de  $H_2$  no rúmen.

Entretanto, de acordo com Martin et al. (2009a), a baixa relação acetato:propionato nem sempre ocorre em animais alimentados com

dietas ricas em concentrado. Nessas situações, a redução da emissão de metano pode ser explicada pela queda do pH ruminal e declínio do número de protozoários ciliados. O baixo pH ruminal também pode inibir o crescimento e/ou atividade das metanogênicas e bactérias celulolíticas.

Desta forma, em dietas com elevadas proporções de concentrado, os fatores que induzem a redução da produção de metano são:

- Aumento da produção de propionato, o que reduz a quantidade de  $H_2$  disponível no rúmen;
- Inibição das metanogênicas (HEGARTY, 1999), das bactérias celulolíticas (BROSSARD et al., 2004) e dos protozoários ciliados pela redução do pH ruminal;
- Produção de bacteriocinas por bactérias lácticas, que inibem a atividade das metanogênicas (RODRIGUEZ E CAMPOS, 2007).

As perdas de metano mostram-se relativamente constantes para dietas contendo de 30 a 40% de concentrado (6 a 7% da EB ingerida) e então decrescem rapidamente para baixos valores (2 a 3% da EB ingerida) para dietas contendo de 80 a 90% de concentrado (LOVETT et al., 2003; BEAUCHEMIN AND MCGINN, 2005; MARTIN et al., 2007).

Berchielli et al. (2003) relataram comportamento quadrático para a produção de metano em bovinos de corte alimentados com diferentes relações volumoso:concentrado. De acordo com os autores, o resultado observado sugere que a adição de concentrado, em baixas quantidades, propiciou condição favorável aos microrganismos, disponibilizando energia para degradação da fração fibrosa no rúmen. No entanto, a partir da adição de 60% de concentrado na dieta, o ambiente ruminal tornou-se prejudicial aos microrganismos responsáveis pela metanogênese, evidenciado pela queda no pH. Primavesi et al. (2004) também relataram que a substituição de volumoso por concentrado energético resultou em emissão máxima de metano quando o concentrado participou em 40% da matéria seca da dieta.



A adição de alimentos concentrados energéticos em dietas de ruminantes visando à redução da emissão de metano é uma estratégia que apresenta limitações econômicas e ambientais. As possíveis consequências metabólicas de dietas com elevado teor de carboidratos não fibrosos, como acidose ruminal, queda na porcentagem de gordura do leite e redução da vida produtiva dos animais devem ser levadas em consideração. A viabilidade econômica de sistemas produtivos que utilizam elevada proporção de concentrado nas dietas de ruminantes é questionável em países com clima propício à produção animal em pastagens, como o Brasil.

Além disso, as consequências do aumento da densidade energética das dietas devem ser analisadas sob visão sistêmica. A emissão de GEE, como CO<sub>2</sub> e óxido nitroso, provenientes dos processos de produção, colheita e transporte dos grãos pode superar a redução da emissão de metano entérico causada pela inclusão desses alimentos na dieta de ruminantes. Abordagens sobre o fluxo de GEE nos sistemas de produção são encontradas nos trabalhos de Johnson et al. (2002b) e Lovett et al. (2006).

Além da quantidade de concentrado na dieta, a sua composição também influencia a produção de metano. Lovett et al. (2005) avaliaram o efeito da suplementação do pasto com concentrado constituído primariamente de subprodutos fibrosos (32,8% de fibra insolúvel em detergente neutro - FDN), sobre a emissão de metano entérico. Foi observado aumento da produção diária de metano (de 346 para 399 g/vaca/dia) com o incremento na quantidade fornecida de concentrado, devido ao seu alto nível de fibra e baixo teor de amido. Entretanto, é importante destacar que os autores observaram tendência de redução da emissão de metano por kg de leite produzido, já que o uso do concentrado promoveu aumento de produção leiteira das vacas.

## B - Forragem

A emissão de metano (g/kg de matéria seca ingerida) é influenciada pelo tipo de volumoso que o animal está ingerindo. Animais consumindo leguminosas geralmente emitem menos CH<sub>4</sub> em relação àqueles

consumindo gramíneas. De acordo com Benchaar et al. (2001), a substituição de feno de capim timóteo (*Phleum pratense*) por alfafa reduziu a emissão de metano em 21% (expresso como % da energia digestível). McCaughey et al. (1999) observaram em bovinos de corte sob pastejo, redução de 10% na produção de metano por unidade de produto, quando a dieta constituída exclusivamente por gramínea foi substituída por outra contendo alfafa e gramínea (70:30). Tal efeito da utilização de leguminosas sobre a emissão de metano é frequentemente explicado pela presença de taninos condensados (WAGHORN, 2007), baixo teor de fibra, maior ingestão de matéria seca com conseqüente aumento da taxa de passagem no rúmen (O'MARA et al., 2004). Chaves et al. (2006) avaliando o efeito do tipo de pastagem na emissão de metano por novilhas de corte ao sobreano, observaram que o método de predição do consumo de matéria seca (CMS) afetou os valores de produção de metano encontrados. A perda de energia bruta ingerida na forma de metano, quando o CMS foi estimado pela técnica dos *n*-alcanos, diferiu entre os tipos de pastagem ( $P < 0,001$ ), sendo de 6,9 ou 9,6%, respectivamente, para novilhas consumindo gramínea ou alfafa. Quando a estimação do CMS foi realizada utilizando o CNCPS (FOX et al., 2004), as perdas foram similares ( $P > 0,05$ ) entre gramínea e alfafa, sendo de 5,8 e 6,2% da EB ingerida, respectivamente.

A utilização de silagens de milho ou de outros cereais, em substituição a silagens de gramíneas, pode reduzir a emissão de metano por ruminantes. Isso se deve a três fatores: presença de amido dos grãos, que favorece a produção de propionato; aumento do consumo voluntário e conseqüente redução do tempo de retenção da digesta no rúmen, que restringe a fermentação ruminal e favorece a digestão pós-ruminal; aumento do desempenho animal devido à associação entre incremento do consumo e digestão pós-ruminal (energeticamente mais favorável do que a fermentação microbiana no rúmen), reduzindo, portanto, a emissão de metano por produto animal (O'MARA et al., 1998).

Existem diferenças significativas na composição de carboidratos das forragens, o que influencia o potencial metanogênico das mesmas.

Gramíneas  $C_4$  podem produzir mais metano por kg de MS ingerida do que gramíneas de ciclo fotossintético  $C_3$  (ULYATT et al., 2002). Corroborando essas informações, Primavesi et al. (2004), trabalhando com vacas em lactação, verificaram emissão de 121 a 147 kg de  $CH_4$ /animal/ano em condições brasileiras, sendo tais valores superiores aos relatados na América do Norte (118 kg de  $CH_4$ /animal/ano para animais de 600 kg de peso corpóreo e lactação de 6.700 kg de leite/ano e ingestão de 2,7% do peso vivo de MS) e no Leste Europeu (100 kg de  $CH_4$ /animal/ano para vacas de 550 kg de peso vivo, lactação de 4.200 kg de leite/ano e ingestão de 2,5% do peso vivo de MS) (IPCC 1995; JOHNSON & WARD, 1996). Os autores atribuíram essa diferença à pior qualidade da forragem tropical em relação à de clima temperado, especialmente pelo maior teor de fibra e menor digestibilidade. As características das gramíneas  $C_4$  podem conduzir a diferentes interpretações quanto ao potencial de fornecimento de substrato para fermentações que geram  $CH_4$  no rúmen. Estas plantas forrageiras, por possuírem maiores proporções de fibra que as plantas de metabolismo  $C_3$  (NELSON E MOSER, 1994) devem favorecer a fermentação acética, com maior produção de  $CH_4$ . Por outro lado, esta fibra apresenta baixa digestibilidade e menor velocidade de fermentação, quando comparada à de plantas de clima temperado, fornecendo menor quantidade de substrato para os microrganismos metanogênicos (PEDREIRA et al., 2005).

Outro fator determinante para a menor produção de  $CH_4$  por vacas em lactação em pastagens de clima temperado é a utilização de grãos em proporção superior a 50% na dieta, a qual atende às exigências energéticas diárias com menor volume de matéria seca. O percentual de  $CH_4$  produzido a partir da energia bruta ingerida é estimado entre 5,5 e 6,5% na América do Norte e Leste europeu (ESTADOS UNIDOS, 2000). Primavesi et al. (2004) encontraram valores de 8,3% para vacas da raça holandesa em lactação, e 10,6% para as mestiças, mantidas em pastagens adubadas de capim-tobiatã (*Panicum maximum* cv. Tobiatã) e braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf.), respectivamente.

Outro fator importante a ser considerado é o método de conservação e o processamento da forragem. De acordo com Beauchemin et al. (2008), a metanogênese tende a ser menor em silagens do que em feno, e quando ela é finamente moída ou peletizada do que quando é grosseiramente picada. A moagem e a peletização de forragens reduzem marcadamente a metanogênese (queda de 20 a 40% da produção de metano por unidade da dieta) (BLAXTER, 1989), devido ao aumento da taxa de passagem. Entretanto, tais efeitos não são aparentes quando o consumo desses alimentos é restrito. A amoniação ou a suplementação proteica de forragens de baixa qualidade aumentam a perda de metano proporcionalmente ao incremento da digestibilidade. Entretanto, a produção de metano por unidade de produto é reduzida (JOHNSON E JOHNSON, 1995).

A implementação de práticas de manejo de pastagens para melhorar sua qualidade aumenta o desempenho animal e a produtividade por unidade de área. Associado ao incremento no desempenho espera-se aumento da emissão de metano, como resultado da maior extensão da fermentação da forragem no rúmen. Entretanto, a quantidade de metano produzido por unidade de produto (leite ou carne) é reduzida se a produção ou crescimento do animal é aumentado. Portanto, estimativas da emissão de metano por animais em pastejo devem ser expressas em relação ao CMS ou ao produto animal.

Hammond et al. (2009) observaram a partir de robusto banco de dados, que a composição química de pastagens de azevém respondeu por apenas 20% da variação na produção de  $\text{CH}_4$ , a qual foi melhor explicada pela ingestão de matéria seca. De acordo com Beever (1993), pode-se esperar menor produção de  $\text{CH}_4$  para forragens tenras com elevado teor de carboidratos não fibrosos (CNF) e baixa concentração de FDN, e maior produção de  $\text{CH}_4$  para forragens mais maduras. Encontrar o correto balanço entre a quantidade e qualidade da forragem é o fator chave em sistemas de produção baseados em pastagem, sendo a massa de forragem pré-pastejo e a altura da forragem pós-pastejo dois fatores críticos que influenciam o consumo e o desempenho animal (WIMS et

al., 2010). A manutenção de massa de forragem elevada pode reduzir a qualidade da pastagem, devido à menor relação folha:caule e maior porcentagem de material senescente, levando à redução no CMS de pasto.

Wims et al. (2010) avaliaram os efeitos de dois níveis de massa de MS de forragem pré-pastejo (baixa: 1.000 kg/ha e alta: 2.200 kg/ha) sobre a emissão de metano, CMS de forragem e produção de leite de vacas manejadas sob pastejo. A emissão de metano foi mensurada em dois experimentos por meio da técnica do gás traçador SF<sub>6</sub>, e o CMS foi estimado a partir da técnica dos *n*-alcanos. Os autores concluíram que o uso de baixa massa de forragem pré-pastejo melhorou a qualidade nutricional do pasto, com conseqüente redução na emissão de metano (g/dia; g/kg de leite; g/kg de sólidos do leite e g/kg de matéria seca de forragem ingerida). Tais resultados estão de acordo com Blaxter e Clapperton (1965), os quais afirmaram que, em altos níveis de consumo (duas a três vezes o nível de manutenção), a produção de CH<sub>4</sub> decresce com o aumento da digestibilidade. Portanto, embora o consumo seja o maior determinante da produção de metano, o estudo de Wims et al. (2010) mostrou que outros fatores estão envolvidos na determinação da emissão de metano, já que produção de metano em g/kg de matéria seca de forragem ingerida diferiu entre os tratamentos.

Robertson e Waghorn (2002) observaram que a produção de metano por vacas leiteiras em pastagem aumentou com o avanço da maturidade da forragem (de 5 para 6,5% da EB ingerida, respectivamente, na primavera e verão). A menor emissão relativa de metano observada para forragens mais jovens pode ser explicada pelos maiores teores de carboidratos solúveis e também de ácido linoleico. Hegarty (2001) analisou o efeito do melhoramento da qualidade nutricional das pastagens na produção de metano por ovinos da raça Merino e verificou que a proporção da energia ingerida perdida como metano diminuiu de 6,6 para 6,0% com o aumento da digestibilidade da forragem consumida, apesar do aumento da produção diária do gás.

Assim, a implementação de adequado manejo de pastagem na propriedade aumenta a quantidade e qualidade de alimento disponível para o animal e, portanto, é estratégia adequada de mitigação de metano entérico, aumentando a eficiência de uso da energia bruta da dieta e reduzindo o impacto ambiental da pecuária. O manejo adequado de sistemas de pastejo rotacionados pode aumentar tanto a quantidade como a qualidade da pastagem disponível para os animais. Como resultado, há melhoria da eficiência alimentar, redução da produção de gás metano por hectare, e incremento no desempenho, o que aumenta a rentabilidade do sistema (CHAVES et al., 2006).

### Adição de lipídeos

Trabalhos indicam que a suplementação de dietas com lipídeos não protegidos reduz a emissão de metano entérico. São múltiplos os mecanismos de ação dos lipídeos sobre a metanogênese:

- Redução da matéria orgânica fermentável no rúmen, já que os lipídeos não são fonte de energia para as bactérias ruminais;
- Redução da atividade das metanogênicas pela presença de ácidos graxos de cadeia média (MACHMULLER et al., 2003)
- Efeito tóxico sobre bactérias celulolíticas (NAGAJARA et al., 1997) e protozoários (DOREAU E FERLAY, 1995) exercido por ácidos graxos poli-insaturados;
- Biohidrogenação dos ácidos graxos poli-insaturados (JOHNSON E JOHNSON, 1995).

O efeito tóxico de ácidos graxos de cadeia longa ocorre por meio da ação sobre a membrana celular, particularmente de bactérias gram-positivas. O ácido linoleico é tóxico para bactérias celulolíticas (*F. succinogenes*, *R. albus* e *R. flavefasciens*), por afetar a integridade celular, e para fungos *Neocallimastix frontalis* cultivados *in vitro* (MAIA et al., 2007). Tais mudanças na população microbiana ruminal favorecem a formação de propionato, aumentando a captação de  $H_2$  nesse processo.

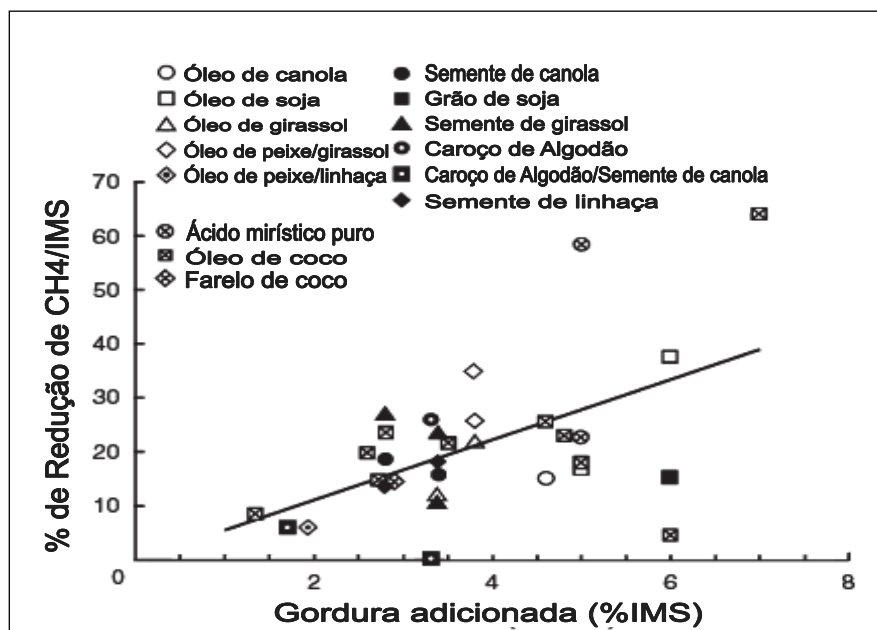
Embora a biohidrogenação dos ácidos graxos poli-insaturados resulte em captura de  $H_2$ , sua influência sobre a metanogênese é baixa, já que

a completa hidrogenação de 1 mol de ácido linolênico previne a formação de apenas 0,75 mol de  $\text{CH}_4$  (MARTIN et al., 2009a). A utilização de hidrogênio metabólico no processo de biohidrogenação de ácidos graxos insaturados é pequena (1%) se comparada àquelas inerentes à redução do  $\text{CO}_2$  (48%), à síntese de AGVs (33%) e à síntese de células bacterianas (12%) (CZERKAWSKI, 1986).

A efetividade da adição de lipídeos para reduzir emissões de metano depende de vários fatores, incluindo nível de suplementação, a fonte de lipídeo utilizada, a forma de fornecimento (óleo refinado ou sementes de oleaginosas, por exemplo) e o tipo de dieta (BEAUCHEMIN et al., 2008).

Embora reduções de metano maiores que 40% sejam possíveis com elevados níveis de adição de lipídeos (MACHMULLER E KREUZER, 1999; JORDAN et al., 2006b), na prática, reduções entre 10 e 25% são as mais prováveis (BEAUCHEMIN et al., 2008). Recomenda-se que a adição de lipídeo total não ultrapasse 6 a 7% da matéria seca dietética para evitar depressão do CMS. A ação múltipla da suplementação lipídica sobre o número e atividade dos microrganismos ruminais pode prejudicar o processo de digestão se o efeito tóxico sobre as metanogênicas provocar acúmulo de  $\text{H}_2$  no rúmen.

Beauchemin et al. (2008), revisando 17 estudos com bovinos e ovinos, estabeleceram relação entre o nível de lipídeo adicionado (% do CMS) e a emissão de metano (g/kg de MS consumida) para diferentes fontes dietéticas de gorduras e óleos (Figura 5). Foi relatada redução de 5,6% na produção de metano para cada 1% de adição de lipídeo. Os autores encontraram considerável variação entre as fontes de lipídeos no efeito sobre a metanogênese. Observou-se queda acentuada na produção de metano (g/kg de MS consumida) em alguns estudos com óleo de coco (63,8% de redução com adição de 7% de gordura; Machmuller e Kreuzer, 1999) e com ácido mirístico (58,3% de redução com 5% de adição de lipídeo; Machmuller et al., 2003).



**FIGURA 5.** Sumário de dados a literatura resultantes de 33 tratamentos, mostrando o efeito da adição de diferentes fontes de lipídeos sobre a redução percentual de metano (g/kg de matéria seca ingerida) em relação às dietas controle.

**Fonte:** Beauchemin et al.,(2008).

Martin et al. (2009a) também sumarizaram dados de estudos *in vivo* (67 dietas suplementadas com lipídeos, oriundas de 28 publicações) avaliando os efeitos de diferentes fontes de lipídeos sobre a emissão de metano entérico em bovinos e ovinos. O resultado obtido foi redução média de 3,8% na emissão de metano (g/kg de MS ingerida) para cada 1% de gordura adicionada na dieta(% do CMS).

Diante do exposto, é evidente que os efeitos dos ácidos graxos sobre a metanogênese ruminal são amplamente dependentes da sua natureza. Suplementos lipídicos ricos em ácidos graxos de cadeia média (12 a 14 átomos de carbono), tais como óleos de coco, de palmáceas ou de canola (rico em ácido láurico), ou ácido mirístico purificado, são particularmente mais depressivos sobre a emissão de metano, principalmente em dietas ricas em concentrado e com baixos níveis de Ca (MACHMULLER



et al., 2003). De acordo com Dohme et al. (2001), os ácidos láurico (C 12:0) e mirístico (C 14:0) fornecidos sozinhos apresentam efeitos similares, mas a combinação desses dois ácidos graxos provoca efeito sinérgico, levando à queda acentuada na emissão de metano (SOLIVA et al., 2004). O mecanismo primário pelo qual os ácidos graxos de cadeia média reduzem a metanogênese é por meio da sua toxicidade sobre as metanogênicas. A utilização comercial dessa estratégia para mitigação do metano tem alto custo em países de clima temperado, mas mostra-se viável no Brasil, devido à maior disponibilidade desses produtos no mercado.

Suplementos ricos em ácidos graxos poli-insaturados, como ácido linoleico das sementes de girassol e ácido linolênico da linhaça, também têm efeito negativo sobre a produção de metano. Martin et al. (2008) observaram redução na emissão de metano de 52% para suplementação com 5,8% de óleo de linhaça, enquanto que Jordan et al. (2006a) relataram redução de 37% para a adição de 6,0% de óleo de soja. O efeito dos PUFA sobre a metanogênese ocorre, em parte, devido à redução na digestibilidade da fibra e no CMS. Quedas drásticas na produção de metano por meio da utilização da suplementação dietética de lipídios ocorrem apenas quando a digestão da fibra é inibida (JOHNSON E JOHNSON, 1995).

Existem poucos estudos avaliando os efeitos de ácidos graxos mono-insaturados, como ácido oleico da canola e ácidos graxos saturados, como palmítico e esteárico do sebo, sobre a metanogênese ruminal. Decréscimo de 30% na produção de metano foi observado quando se adicionou 12% de sebo na dieta de vacas em lactação (VAN DER HONING et al., 1983). Entretanto, esse efeito não foi observado em alguns estudos com vacas leiteiras (JOHNSON et al., 2002a; WOODWARD et al., 2006) e ovinos (COSGROVE et al., 2008).

Entre as fontes de ácidos graxos de cadeia longa, disponíveis para suplementação, sementes de oleaginosas e gordura animal são mais baratas do que óleos refinados. A utilização do sebo na alimentação

de ruminantes, entretanto não é permitida no Brasil. As sementes de oleaginosas precisam ser processadas mecanicamente antes do fornecimento, pois grande parte não é rompida no processo de mastigação. A utilização de sementes ao invés do óleo refinado previne efeitos negativos acentuados sobre a digestibilidade da fibra e CMS, já que a liberação dos ácidos graxos no rúmen é mais lenta.

Alguns estudos mostraram que o efeito dos lipídeos sobre a metanogênese depende parcialmente do tipo da dieta, mas os resultados não são definitivos. Martin et al. (2009b) encontraram queda mais pronunciada para dietas com feno do que com silagem de milho com o uso de linhaça em vacas leiteiras. Lovett et al. (2003) mostraram que a suplementação com óleo de coco promoveu maior redução da emissão de metano por novilhos em dietas suplementadas com concentrado do que naquelas ricas em forragem.

A utilização da suplementação lipídica como estratégia de mitigação do metano entérico deve considerar os efeitos sobre o metabolismo e desempenho do animal, para que a escolha da fonte de óleo/gordura e o nível de adição na dieta sejam estabelecidos de forma apropriada. Os efeitos negativos do uso de lipídios para ruminantes são menos expressivos em dietas com baixo teor de fibra. Portanto, a suplementação com lipídio deve ser mais cautelosa em sistemas de produção em pastagem. Além disso, são necessários mais estudos *in vivo* para avaliar o uso de óleo/gordura em dietas de ruminantes, considerando os efeitos em longo prazo e não apenas sua ação em períodos experimentais curtos.

Grainger et al. (2010b) avaliaram os efeitos da suplementação de dietas de vacas leiteiras com caroço de algodão por 12 semanas, sobre a metanogênese, pela técnica do gás traçador SF<sub>6</sub>. Os autores observaram redução persistente na emissão de metano (3,5 g de CH<sub>4</sub>/kg de MS ingerida, em média) ao longo de 12 semanas com a adição de caroço de algodão (2,61 kg de MS/vaca/dia). A redução observada na produção de metano (g/kg de MS ingerida), de 5,1% na primeira semana, aumentou para 14,5% na 12ª semana.

Com a obrigatoriedade da inclusão de percentuais mínimos de biocombustível ao diesel, instituída pela Lei 11.097/2005 do governo brasileiro (a partir de janeiro de 2010, tornou-se obrigatório a inclusão de 5% de biodiesel ao diesel), a agricultura brasileira vem se adequando à produção de oleaginosas para fins não alimentares. Opções de matérias primas vêm sendo estudadas e utilizadas (soja, mamona, algodão, pinhão-mansão, dendê, licuri, babaçu, macaúba, nabo forrageiro, amendoim, girassol, canola e côco). Uma das consequências desta nova realidade é a geração de grandes quantidades de coprodutos (farelos, tortas e glicerina), além da disponibilidade de diversos tipos de óleos que são utilizados para a produção de biodiesel, ambos com potencial para inclusão em dietas de ruminantes e, possivelmente, de contribuir com a mitigação de metano entérico.

Pereira et al. (2008) destacaram a glicerina como possível ingrediente alimentar capaz de mitigar metano, já que os precursores diretos de propionato têm demonstrado efeito positivo na redução da metanogênese. Na Conferência Internacional de GEE na Agricultura, realizada em Banff no Canadá, Stagno et al. (2010) e Lee et al. (2010) indicaram a possibilidade de redução da emissão de metano com a inclusão de glicerina com base em estudo *in vitro*. Já Reynolds et al. (2010), conduzindo ensaio *in vivo*, não observaram redução na emissão de metano por vacas alimentadas com dietas contendo glicerina.

A quantificação da capacidade de mitigação dos coprodutos do biodiesel é importante, pois os benefícios da inclusão dos mesmos, bem como de óleos na dieta de ruminantes podem somar-se aos benefícios da utilização de biodiesel como fonte energética (redução da emissão de CO<sub>2</sub>), contribuindo para a consolidação do Brasil como referência mundial em biocombustíveis.

## Aditivos

Outra estratégia de mitigação de metano entérico é a utilização de aditivos. A manipulação do ecossistema ruminal é ferramenta bastante utilizada por nutricionistas, visando aumentar a conversão alimentar e o desempenho dos animais. No passado, as pesquisas focaram o uso de

antimicrobianos como, por exemplo, a monensina. Entretanto, a crescente pressão da sociedade contra a utilização desse tipo de aditivo na alimentação animal tem incentivado a busca por métodos alternativos para manipulação do ambiente ruminal.

## Ionóforos

Os ionóforos são antimicrobianos tipicamente utilizados como aditivos em rebanhos comerciais de bovinos leiteiros e de corte, visando modular o CMS e aumentar a eficiência de produção de carne e leite (McGUFFEY et al. 2001). Essas substâncias são poliésteres carboxílicos, com baixo peso molecular, resultantes da fermentação de várias espécies de actinomicetos produzidos, principalmente, por bactérias dos gêneros *Streptomyces* spp e *Actinomadura* spp. Atualmente são conhecidos mais de 120 tipos de ionóforos, no entanto, apenas a monensina (*S. aureofaciens*), a lasalocida (*S. cinnamomensis*), a salinomicina (*S. albus*) e a laidomicina propionato são aprovados para inclusão em dietas de ruminantes (BARRAGRY 1994; NAGARAJA et al., 1997).

A ação dos ionóforos no rúmen ocorre por mudanças na população microbiana, selecionando bactérias Gram-negativas, produtoras de ácido succínico ou que fermentam ácido láctico, e inibindo Gram-positivas, produtoras dos ácidos acético, butírico e láctico e também de H<sub>2</sub> (MORAIS et al., 2006). As bactérias Gram-negativas são mais resistentes aos ionóforos em virtude de sua célula ser constituída por parede celular e membrana externa de proteção que impede a entrada dos ionóforos. Por outro lado, as bactérias Gram-positivas possuem apenas uma camada espessa de peptidoglicanos que, por ser porosa, não impede a ação da monensina. De forma geral, todos os efeitos dos ionóforos são secundários ao fenômeno causado pela alteração da fisiologia normal da membrana celular dos microrganismos.

Os ionóforos têm sido definidos como substâncias capazes de interagir passivamente com cátions, servindo assim como veículo de transporte para estes, através da membrana celular (RUSSEL & STROBEL, 1989). Estes antibióticos formam complexos com cátions monovalentes e bivalentes, como K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> e Mg<sup>2+</sup>, entretanto, possuem afinidade

diferenciada por estes íons. A monensina sódica modula primariamente o  $\text{Na}^+$ , pois sua afinidade a este íon é dez vezes maior do que ao  $\text{K}^+$ , e não tem afinidade por íons bivalentes. Por outro lado, a lasalocida tem maior afinidade para o  $\text{K}^+$  e menor atração pelo  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Na}^+$  (PRESSMAN, 1976).

O mecanismo de ação dos ionóforos sobre as bactérias está relacionado com o funcionamento da bomba iônica, responsável pelo controle do balanço químico entre os meios interno e externo da célula. Os ionóforos, ao se ligarem à membrana celular das bactérias e protozoários e, provavelmente, à dos fungos ruminais, facilitam o movimento dos cátions através da membrana celular, levando à redução da concentração intracelular de  $\text{K}^+$ , baixo pH e maior concentração intracelular de  $\text{Na}^+$  (MORAIS et al., 2006). Nessa situação, as bactérias Gram-positivas são forçadas a utilizar os sistemas de transporte celular para dissipar o  $\text{H}^+$  e o  $\text{Na}^+$  intracelular na tentativa de manter o equilíbrio na célula, com o gasto de 1 ATP por próton mobilizado. Esse processo, juntamente com a baixa concentração de  $\text{K}^+$  intracelular, reduz as reservas energéticas e a taxa de síntese de proteína microbiana, com conseqüente menor capacidade de divisão celular. Como conseqüência, a bomba iônica não opera eficientemente, provocando desequilíbrio e devido à maior concentração de cátions dentro da célula, ocorre aumento da pressão osmótica; a água penetra em excesso e com isso a célula tende a romper-se. Desse modo, as bactérias acabam morrendo ou assumem um nicho microbiano sem expressão no rúmen (MORAIS et al., 2006).

Além da parede celular ser importante barreira contra a ação dos ionóforos nas bactérias Gram-negativas (RUSSEL & STROBEL, 1988), outros mecanismos de resistência já foram descritos. Os ionóforos exercem ação seletiva sobre as bactérias, de forma que as Gram-negativas sobrevivem graças ao sistema enzimático fumarato-redutase mais prevalente neste tipo de microrganismo, que acopla o transporte de elétrons à extrusão de prótons, via membrana plasmática (CHEN & WOLIN, 1979). Bactérias que produzem os ácidos láctico, acético, butí-

rico e fórmico e também o  $H_2$  são susceptíveis aos ionóforos, enquanto bactérias produtoras dos ácidos succínico e propiônico e aquelas fermentadoras de lactato são resistentes (MORAIS et al., 2006).

Os efeitos anti-metanogênicos dos ionóforos estão mais relacionados com a inibição da formação dos precursores (formato e  $H_2$ ) do metano do que um efeito direto sobre a população de metanogênicas, uma vez que essas são mais resistentes aos ionóforos do que as bactérias que produzem e fornecem  $H_2$ . A redução dos precursores de metano seria responsável por apenas 45% do efeito dos ionóforos sobre a produção de metano, sendo o restante consequência da menor ingestão de alimentos (NAGARAJA et al., 1997). A diminuição da produção de metano observada na presença de ionóforos também pode estar associada à inibição no crescimento de protozoários ciliados que, conhecidamente produzem  $H_2$  e são colonizados por metanogênicas (McALLISTER et al., 1996).

Johnson e Johnson (1995), revisando a adição de ionóforos a dietas baseadas em grãos e forragem, encontraram grande variação quanto à redução na metanogênese ruminal (entre 4 e 31%) e concluíram que qualquer efeito é de curta duração e que o  $CH_4$  retorna a níveis normais depois de duas semanas. Eles também comentaram que a redução na produção de metano foi provavelmente relacionada à queda na ingestão de matéria seca e não ao efeito direto na metanogênese. De acordo com Tedeschi et al. (2003), os ionóforos podem reduzir a produção de  $CH_4$  em 25% e a ingestão de alimentos em 4%, sem afetar o desempenho animal. Dados da literatura indicam que o efeito da monensina na redução da emissão de metano é dose-dependente. Alguns estudos revisados por Beauchemin et al. (2008) mostraram que doses inferiores a 15 ppm não têm efeito sobre a metanogênese (g de metano/dia ou g de metano/kg de MS ingerida) em vacas leiteiras. Doses mais altas (24 a 35 ppm) reduziram a produção de metano (g/dia, em 4 a 10%; e em g/kg de MS ingerida, em 3 a 8%) por bovinos de corte e de leite (SAUER et al. 1998; McGINN et al. 2004; VAN VUGT et al. 2005;

ODONGO et al. 2007). Reduções de 30% na emissão de metano foram reportadas quando 33 ppm de monensina foi incluída em dietas com alto ou baixo teor de forragem (GUAN et al. 2006).

A inibição da metanogênese pelos ionóforos não é sustentada por longos períodos, provavelmente, devido à habilidade de adaptação da microflora ruminal (NEWBOLD et al., 1993; JOHNSON & JOHNSON, 1995). Guan et al. (2006) mostraram que a monensina (33 mg/kg) reduziu a emissão de metano por bovinos de corte em até 30%, mas os níveis de produção desse gás foram restaurados dentro de dois meses. Possíveis explicações para o desenvolvimento de resistência aos ionóforos incluem modificações dos polissacarídeos da membrana celular, aumento na atividade da bomba iônica (RUSSEL E STROBEL, 1989) e substituição da população de bactérias susceptíveis por outra com predominância de bactérias resistentes (LANA E RUSSEL, 1986). Entretanto, Odongo et al. (2007) evidenciaram que o desenvolvimento de resistência aos ionóforos pode não acontecer. Estes autores observaram que a monensina reduziu a produção de metano em vacas leiteiras por um período superior a seis meses. A adaptação dos microrganismos ruminais aos ionóforos pode ser dependente do tipo de dieta. Alguns estudos sugerem menor adaptação à monensina quando as dietas são à base de forragem (DAVIES et al., 1982; RUMPLER et al., 1986; O'KELLY & SPIERS, 1992). Tedeschi et al. (2003) propuseram que, mesmo no caso de adaptação microbiana à monensina, os ionóforos são efetivos na mitigação de metano entérico por melhorar a eficiência de conversão alimentar e, conseqüentemente, por reduzir a emissão de metano por quilograma de carne ou de leite.

Grainger et al. (2010a) avaliaram o uso de dose elevada de monensina (471 mg/dia) em vacas alimentadas com pasto de azevém suplementado com 4 kg/dia de grãos de cevada. A emissão de metano foi estimada nos animais em pastejo pela técnica do gás traçador SF<sub>6</sub> e também em câmaras respirométricas. Em ambas condições, a adição de monensina não aumentou a produção de leite e não promoveu efeito sobre a emissão de metano entérico (g/dia, g/kg de leite e g/kg de MS ingerida).

Os autores concluíram que a monensina não representa estratégia de mitigação viável para vacas leiteiras em pastagem suplementadas com concentrado.

Os possíveis efeitos transitórios dos ionóforos, associado com a crescente pressão para reduzir o uso de antimicrobianos na produção animal, sugerem que essa estratégia de mitigação da emissão metano entérico por ruminantes não representa uma solução de longo prazo.

### Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos (malato e fumarato) representam alternativa ao uso de antimicrobianos como aditivos na alimentação de ruminantes. Essas substâncias podem estimular a captação de lactato pelas bactérias *Selenomonas ruminantium* (MARTIN E PARK, 1996) e atuar como tampões, prevenindo quadros de acidose ruminal em dietas ricas em concentrados energéticos. Além disso, o suprimento de ácidos orgânicos, precursores diretos de propionato, tem demonstrado efeito positivo na redução da metanogênese, sendo o efeito dose-dependente (ASANUMA et al., 1999; O´MARA, 2004).

A metanogênese pode ser reduzida pelo aumento da utilização do  $H_2$  e formato por outros microrganismos que não os metanogênicos. Os efeitos dos ácidos orgânicos como inibidores da emissão de metano deve-se à redução da disponibilidade de  $H_2$  no rúmen por atuarem como seus receptores para formação de succinato. *Fibrobacter succinogenes*, *S. ruminantium* (*ruminantium*), *S. ruminantium* (*lactilytica*), *Veillonella parvula* e *Wolinella succinogenes* são microrganismos utilizadores de fumarato, competindo com os metanogênicos pelo uso do  $H_2$  (CASTILLO et al., 2004).

Algumas bactérias anaeróbico-restritas utilizam ciclo redutivo ou reverso do ácido cítrico, conhecido como via succinato-propionato, para sintetizar propionato ou succinato. *S. ruminantium* utilizam o lactato, substrato reduzido, como fonte de carbono e energia. A adição de malato fornece receptores de  $H_2$ , estimulando a utilização do lactato por essas bactérias, o que contribui para a manutenção do pH ruminal (NELSON E COX, 2000).



Demeyer e Henderickx (1976) conduziram um dos primeiros estudos *in vitro* avaliando o efeito dos ácidos orgânicos sobre a metanogênese e mostraram que o fumarato promoveu redução de 60% na formação de CH<sub>4</sub>. Utilizando a técnica de simulador ruminal (Rusitec), López et al. (1999) observaram que a adição de 6,25 mM de fumarato reduziu em, aproximadamente, 17% a formação de CH<sub>4</sub>. Entretanto, esses autores alertaram que a utilização do fumarato poderia não ter o mesmo efeito *in vivo*, devido à menor afinidade pelo H<sub>2</sub> da enzima fumarato-redutase em comparação com a hidrogenase.

Assim, em contraste ao efeito bem estabelecido dos ácidos orgânicos sobre a metanogênese em estudos *in vitro*, as respostas *in vivo* para a adição desses aditivos na dieta permanecem inconclusivas e altamente variáveis (MARTIN et al., 2009a). Wallace et al. (2006) observaram excepcional redução de 75% na produção de metano com adição de 10% de fumarato encapsulado na dieta de cordeiros, sem efeito negativo no crescimento dos animais. Já McCourt et al. (2008) não observaram efeito do fumarato encapsulado em vacas leiteiras.

A utilização comercial dos ácidos orgânicos como aditivos para ruminantes é limitada, principalmente, pelo custo, podendo sua utilização não ser economicamente viável. Por essa razão, forragens podem ser fornecidas como fonte de ácidos dicarboxílicos. Os intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico acumulam-se nos tecidos das plantas. Entretanto, de acordo com O'Mara (2004), grande variação é verificada (0,6 a 7,5% da MS). Callaway et al. (1997) conduziram estudo para determinar as concentrações de malato presentes no feno de cinco variedades de alfafa, em diferentes estádios de maturação. Com o avanço da maturidade, a concentração de malato reduziu, variando de 6,5 a 7,0%, para a alfafa colhida jovem, a 2,9 a 4,5% quando colhida tardiamente. Martin (1998) sugeriu que o elevado teor de malato em forragens frescas nos estádios iniciais de crescimento, especialmente alfafa, podem promover mudanças significativas na fermentação microbiana ruminal.

São necessárias mais pesquisas avaliando as modificações promovidas no ambiente ruminal pelos ácidos orgânicos, fornecidos como aditivos,

bem como aqueles presentes em forragens nos estádios iniciais de crescimento.

## Leveduras

As leveduras são fungos unicelulares, especialmente do gênero *Saccharomyces*, e têm sido utilizadas como probióticos em dietas de ruminantes. As alterações associadas à utilização das leveduras incluem aumento da concentração de AGVs e proporção molar de propionato, decréscimo da concentração de ácido láctico no líquido ruminal, e menor variação pós-refeições no pH e amônia ruminal (MORAIS et al., 2006).

As leveduras fornecem nutrientes e removem o oxigênio adsorvido às partículas de alimento que entram no rúmen, estimulando o crescimento de bactérias, principalmente celulolíticas, fungos e protozoários ciliados (WALLACE, 1994). Extratos aquosos de *S. cerevisiae* estimularam, em culturas puras, o crescimento/atividade das bactérias utilizadoras de lactato, como *Selenomonas ruminantium* e *Megasphaera elsdenii* (NISBET E MARTIN, 1991), devido ao seu elevado teor de ácido málico, que serve de intermediário para a transformação de lactato em propionato.

A utilização de leveduras como estratégia de mitigação da emissão de metano entérico não tem sido extensivamente pesquisada. Os poucos trabalhos disponíveis na literatura focam outros efeitos não relacionados à metanogênese e os resultados descritos são contraditórios, com aumento, redução ou ausência de alterações sobre a emissão de metano (CHAUCHEYRAS-DURAND et al., 2008). As leveduras apresentam grande diversidade funcional e metabólica e algumas cepas são capazes de reduzir a produção de metano *in vitro* (NEWBOLD E RODE, 2006).

A suplementação com leveduras pode estimular uma espécie de bactéria acetogênica "hidrogeniotrófica" hábil para utilizar o  $H_2$  para produção de acetato em condições *in vitro*. Em coculturas de bactérias acetogênicas e metanogênicas, sem adição de levedura, 19% do  $H_2$  foi utilizado para a síntese de acetato e 79% para a produção de metano. Já na presença de levedura, 70% do  $H_2$  foi utilizado para a produção de acetato (CHAUCHEYRAS et al., 1995). Mas esses resultados ainda

precisam ser confirmados *in vivo*. Nas condições normais do rúmen, as bactérias acetogênicas utilizam ineficientemente o  $H_2$ , devido à sua baixa afinidade pelo  $H_2$  livre do rúmen (100 vezes menor do que observado para os microrganismos metanogênicos) (DEHORITY, 2003).

### Extratos de plantas

Há crescente interesse na utilização de compostos secundários de plantas como estratégia de mitigação do metano, por representar alternativa natural à utilização de aditivos químicos. Várias plantas contêm compostos secundários que as protegem do ataque de fungos, bactérias, insetos e herbívoros. O efeito dessas moléculas sobre a metanogênese ruminal é altamente variável. A maioria dos trabalhos aborda o uso de taninos, saponinas e óleos essenciais. Quando elevados níveis dessas substâncias são ingeridos podem ocorrer efeitos adversos sobre o desempenho e saúde do animal, mas, em baixas concentrações, são capazes de melhorar o processo fermentativo no rúmen (MORAIS et al., 2006; BEAUCHEMIN et al., 2008).

Os taninos são substâncias polifenólicas com variados pesos moleculares e complexidade, sendo classificados em hidrolisáveis e condensados. A atividade antimetanogênica dos taninos presentes nas plantas tem sido atribuída, principalmente, ao grupo de taninos condensados. Taninos hidrolisáveis, embora também afetem a metanogênese, são considerados mais tóxicos para os animais (FIELD et al., 1989).

Os taninos formam complexos, principalmente, com proteínas e, em menor grau, com íons metálicos, aminoácidos e polissacarídeos, reduzindo a digestibilidade destes. Entretanto, a presença de baixas concentrações de taninos na dieta pode ser utilizada como potencial modulador da fermentação ruminal (MORAIS et al., 2006). A ação dos taninos condensados na metanogênese pode ser atribuída a um efeito indireto, pela redução na produção de  $H_2$ , como consequência da redução na digestibilidade da fibra, e por efeito inibitório direto na população metanogênica (WOODWARD et al., 2001).

Tiemann et al. (2008) observaram que a inclusão de leguminosas com elevados teores de tanino (*Callinadra calothyrsus* e *Fleminga macrophylla*) provocou diminuição na emissão de metano por carneiros em até 24%, mas esse efeito foi associado à redução na digestibilidade da matéria orgânica e da fibra. Carneiros recebendo “Gamberin”, um produto contendo 49% de tanino condensado (extrato solidificado das folhas de *Uncaria gambir*), apresentaram significativa redução na perda de energia como metano (% da EB) e queda de 75% no número de protozoários ciliados (SARVAN, 2000).

Vacas leiteiras apresentaram menor emissão de metano (26,9 g/kg de MS ingerida e 378 g/kg de sólidos do leite) quando alimentadas com *Lotus corniculatus* do que quando receberam silagem de azevém (35,23 g de CH<sub>4</sub>/kg de MS ingerida e 434 g de CH<sub>4</sub>/kg de sólidos do leite) (WOODWARD et al., 2001). Entretanto, alguns trabalhos sugeriram que os taninos não exercem efeito sobre a produção de metano ruminal.

Oliveira et al. (2006), avaliando o efeito de dietas contendo silagens de sorgo com baixo e alto teor de taninos, fornecidas para bovinos de corte, não observaram efeito desses compostos sobre a metanogênese. Beauchemin et al. (2007) também reportaram que o fornecimento de dietas contendo taninos de quebracho acima de 20 g/kg de matéria seca não reduziu a emissão de metano por bovinos em crescimento. Jayanegara et al. (2010) avaliaram a relação entre os valores de taninos obtidos a partir de diferentes ensaios (fenóis totais, taninos totais, taninos condensados e bioensaio) e a produção de metano *in vitro* após 24 h de incubação. O bioensaio foi a metodologia mais acurada para prever o potencial de redução de produção de metano das plantas avaliadas. Como as análises químicas desses parâmetros são relativamente simples, elas podem ser utilizadas para o *screening* de grande número de amostras para avaliar seu potencial antimetanogênico e identificar plantas promissoras para serem avaliadas em ensaios *in vivo*.

Saponinas são glicosídeos encontrados em muitas plantas, como *Brachiaria decumbens* e *Medicago sativa* (alfafa) e apresentam efeito

direto sobre os microrganismos ruminais. As saponinas reduzem a degradação de proteínas e, ao mesmo tempo, favorecem a síntese de proteína e biomassa microbiana, dois processos que resultam em menor disponibilidade de  $H_2$  para a metanogênese (MARTIN et al., 2009a). Mas o principal mecanismo de ação antimetanogênica das saponinas está relacionado ao efeito tóxico sobre protozoários ciliados. As saponinas emulsificam os lipídeos da membrana celular dos protozoários, causando mudanças na sua permeabilidade, e morte da célula (WALLACE et al., 2002).

Hess et al. (2004) observaram decréscimo de 54% na contagem de protozoários e redução de 20% na produção *in vitro* de metano utilizando elevadas doses de saponinas (12 mg/g de MS). Guo et al. (2008) observaram redução na metanogênese (8%) e no número de protozoários (50%) com o uso de saponinas *in vitro*. Os autores relataram redução na atividade das metanogênicas (76%), mensurada por meio da expressão do gene *mcrA*, sem que o número de metanogênicas fosse afetado. Entretanto, o efeito anti-protozoário das saponinas pode ser provisório e nem sempre é acompanhado pela redução na produção de metano. Os resultados da utilização das saponinas na fermentação ruminal têm-se mostrado contraditórios e uma das principais razões da dificuldade de se obter dados consistentes é a grande variedade estrutural desses compostos. Portanto, a fonte de saponinas deve ser levada em consideração, já que há considerável variação inter e intra-espécies vegetais. São necessários mais estudos para identificar quais os tipos de saponinas geram resultados mais persistentes sobre a metanogênese ruminal (MORAIS et al., 2006).

Óleos essenciais são metabólitos secundários, são responsáveis pelo odor e cor de algumas plantas. As pesquisas conduzidas até o momento indicam a possibilidade da utilização de óleos essenciais para manipulação da fermentação ruminal. Muitas moléculas biologicamente ativas presentes nos óleos essenciais apresentam propriedades antimicrobianas, atuando sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Entre os óleos essenciais estudados, destaca-se o extraído do alho

(*Allium sativa*) por vaporização e destilação, apresentando efeito sobre a metanogênese *in vitro*. Busquet et al. (2005) avaliaram os efeitos do óleo essencial obtido do alho e de quatro de seus componentes (diallyl sulfeto, diallyl disulfeto, allyl mercaptan e allicin) sobre a fermentação ruminal *in vitro*. A produção de metano após 17 h de fermentação foi significativamente reduzida pelo óleo essencial de alho, allyl mercaptan e diallyl disulfeto. McAllister et al. (2008) estudaram um produto de allicin disponível no mercado. Nos níveis de inclusão de 0; 2 e 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , o allicin não afetou a produção diária de AGVs e de nitrogênio amoniacal ( $\text{N-NH}_3$ ). Entretanto, em concentração de 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , a produção de metano foi significativamente reduzida, o que está relacionado à redução da população de metanogênicas em relação à população bacteriana total, avaliada por PCR.

Diversas plantas, com diferentes metabólitos secundários, têm sido avaliadas como possíveis mitigadoras de metano entérico. Garcia-González et al. (2010) avaliaram o uso de raiz de ruibarbo (*Rheum* ssp.) e casca de amieiro negro (*Frangula alnus*) como aditivos em dietas baseadas em forragem, em fermentadores que simulam as condições ruminais (Rusitec). Essas plantas apresentam diferentes constituintes químicos, destacando-se os derivados de antraquinona, aos quais tem sido atribuído efeito inibitório direto sobre as metanogênicas e acúmulo de  $\text{H}_2$  no rúmen. O ruibarbo apresentou significativa e persistente atividade antimetanogênica, sem efeitos negativos sobre a fermentação ruminal, podendo ser considerado de interesse para o desenvolvimento de aditivos para controlar a produção de metano.

Watabane et al. (2010) avaliaram o uso de líquido da casca da castanha de caju (CNSL), um coproduto da produção de castanha de caju em países tropicais, que apresenta várias aplicações industriais. O CNSL apresenta compostos fenólicos, destacando-se o ácido anacárdico, que inibem seletivamente bactérias Gram-positivas. Os autores realizaram uma série de experimentos *in vitro* utilizando dietas ricas em concentrado (V:C; 30:70), para avaliar os efeitos de diferentes doses de CNSL cru e termicamente processado. Os resultados obtidos indicam que o

CNSL cru pode ser uma alternativa de manipulação ruminal, aumentando a produção de propionato e reduzindo a emissão de metano.

O Brasil, um país com dimensões continentais, apresenta ampla diversidade de extratos vegetais que podem ser incorporados à dieta dos animais. Entretanto o potencial de mitigação de metano desses materiais ainda é desconhecido. Na Comunidade Européia, um projeto desenvolvido em rede, chamado “*RumenUp*” (*Ruminal Metabolism Enhanced Naturally Using Plants*) permitiu a avaliação de 500 substratos vegetais quanto à capacidade de mitigação de metano e efeitos adversos na fermentação ruminal. Dos materiais testados, 25 apresentaram algum tipo de ação positiva. Assim, após a identificação de extratos de plantas com potencial mitigador, através de ensaios *in vitro*, sua utilização prática na dieta de ruminantes requer estudos *in vivo* para determinar a dose ideal dos seus componentes ativos e analisar a presença de resíduos nos produtos animais para o consumo humano. Além disso, é preciso investigar possíveis efeitos antinutricionais de tais moléculas, e considerar o potencial de adaptação dos microrganismos ruminais (MARTIM et al., 2009).

A prospecção de alternativas alimentares nos diferentes biomas brasileiros pode ser importante estratégia para obtenção de produtos ou processos agropecuários com capacidade de mitigação de metano entérico.

## Estratégias de mitigação via rotas alternativas de utilização do H<sub>2</sub>

Uma das estratégias de mitigação de metano é o redirecionamento do H<sub>2</sub> para processos que geram produtos benéficos para os ruminantes. Exemplos incluem a adição à dieta de substratos que estimulam a produção de propionato e tentativas de introduzir bactérias que expressam acetogênese redutiva no rúmen. Esses processos levam à produção de propionato e acetato, respectivamente, e reduzem a disponibilidade de H<sub>2</sub> para a metanogênese (VAN ZIJDERVELD et al., 2010). O uso de sais de nitrato ou sulfato também tem sido avaliado como estratégia de mitigação de metano entérico, por também representar via alternativa de utilização do H<sub>2</sub>.

## Probióticos acetogênicos

Microrganismos que utilizam  $H_2$  para seu crescimento exercem papel fundamental no ecossistema anaeróbico ruminal. Para que a digestão aconteça normalmente, com formação de acetato, propionato e butirato, é necessário que a pressão parcial de  $H_2$  seja mantida baixa. No rúmen, isso acontece por meio da metanogênese. Em algumas espécies com fermentação pós-gástrica (humanos, *hamster*, coelho, rato) a acetogênese redutiva é um mecanismo natural de utilização do  $H_2$  no trato gastrointestinal. Sabe-se que a acetogênese também acontece no rúmen, mas sua capacidade “hidrogeniotrófica” e significância ecológica não são bem compreendidas (MACKIE E BRYANT, 1994).

O primeiro microrganismo ruminal acetogênico reconhecido, *Eubacterium limosum*, foi isolado em ovinos alimentados com dieta à base de melaço (GETHNER et al., 1981). Foi então demonstrado sua capacidade de crescer em meio com  $CO_2$  e  $H_2$ , e produzir acetato. A dificuldade de isolar acetogênicos (BRAUN et al. 1979) indicaram que esses microrganismos não eram habitantes naturais do rúmen e a acetogênese não foi considerada processo ruminal relevante. Entretanto, com o aumento das discussões sobre o papel do metano no aquecimento global, a acetogênese passou a ser vista como potencial estratégia de mitigação da emissão de metano entérico.

Além disso, o produto final dessa reação, o acetato, tem a vantagem adicional de ser fonte de energia para o animal hospedeiro. Entretanto, no ambiente ruminal a acetogênese é menos eficiente do que a metanogênese na competição por equivalentes redutores. A acetogênese precisa de concentração de  $H_2$  mais elevada no meio para reduzir  $CO_2$  a acetato, do que aquela necessária pelas metanogênicas para reduzir  $CO_2$  a  $CH_4$ . Além disso, a última reação é termodinamicamente mais favorável (WEIMER, 1998).

Recentes estudos indicaram que todos os ruminantes apresentam pelo menos uma pequena população de bactérias acetogênicas e que sua densidade é influenciada pela dieta. Sugere-se que a presença de



acetogênicas no rúmen seja um mecanismo de defesa para se evitar acúmulo de  $H_2$  em casos de inibição da metanogênese, ou seja, esses microrganismos provavelmente não atuam no rúmen competindo com as metanogênicas (HEGARTY, 2001). Bactérias acetogênicas estão presentes em grande número no rúmen de bezerros recém-nascidos, antes do estabelecimento da metanogênese (Morvan et al., 1994), e em bovinos alimentados com dietas com baixa relação volumoso:concentrado (LEEDLE E GREENING, 1988). Le Van et al. (1998) encontraram densidade de bactérias acetogênicas de  $2,5 \times 10^5$ /mL de líquido ruminal em vacas de corte alimentadas com dieta à base de feno e concentrado, mas, para dieta rica em concentrado contendo monensina, densidade foi menor que  $10^2$ /mL.

A habilidade da acetogênese reductiva competir com a metanogênese parece depender das condições do ambiente ruminal e pode ser necessário que a população de acetogênicas atinja específica densidade mínima. Le Van et al. (1998) relataram ser necessário atingir a densidade de  $10^7$ /mL para que a população de *Acetitomaculum ruminis* incubada em digesta ruminal atuasse como hidrogeniotrófica. Esses dados concordam com a observação de que o limiar de  $H_2$  da *A. ruminis* é de 3.830 ppm (1,92 mM), enquanto metanogênicas apresentam limiar de 126 ppm (0,06 mM) (JOBLIN, 1999).

O uso de probióticos para aumentar a população de acetogênicas no rúmen tem sido estudado por vários autores, com e sem adição de inibidores da metanogênese, mas os resultados até agora não foram satisfatórios ou não são conclusivos. O recente isolamento de novas espécies oriundas do trato gastrointestinal de diversas espécies com maior afinidade pelo  $H_2$  (KLIEVE E JOBLIN, 2007) representa nova perspectiva para essa estratégia de mitigação.

### Sais de nitrato ou de sulfato

O uso do nitrato como alternativa de utilização do  $H_2$  tem sido mal visto devido aos possíveis efeitos tóxicos do nitrito, composto intermediário formado na redução do nitrato a amônia. A redução de nitrato a nitrito ( $\Delta G_T = -130$  kJ/mol de  $H_2$ ) e subsequente redução do nitrito

a amônia ( $\Delta G_T = -124$  kJ/mol de  $H_2$ ) libera mais energia do que a redução do  $CO_2$  a  $CH_4$  ( $\Delta G_T = -16,9$  kJ/mol de  $H_2$ ) (UNGERFELD E KOHN, 2006). Esse processo poderia ser a principal rota de eliminação do  $H_2$  se suficiente quantidade de nitrato estivesse disponível no ecossistema ruminal ativo. A redução de nitrato a amônia consome oito elétrons e cada mol de nitrato reduzido, podendo então diminuir a produção de metano em 1 mol. A amônia produzida estaria disponível para processos anabólicos e seria importante fonte de N fermentável em dietas deficientes em proteína bruta, nas quais as baixas concentrações de amônia ruminal limitam a síntese de proteína microbiana (VAN ZIJDERVELD et al., 2010).

Em animais não adaptados ao uso de nitrato na dieta, a capacidade dos microrganismos ruminais reduzirem nitrato a nitrito excede a capacidade de redução do nitrito. Esse composto é então absorvido pelo epitélio ruminal e converte a hemoglobina sanguínea da forma ferrosa ( $Fe^{2+}$ ) para a férrica ( $Fe^{3+}$ ), tornando a molécula incapaz de transportar  $O_2$  para os tecidos (metahemoglobinemia). A condição resultante é um estado geral de anoxia, que pode reduzir o desempenho animal e, nos casos mais severos, ser fatal (OZMEN et al., 2005). A suplementação com enxofre ou cisteína pode reduzir o acúmulo de nitrito no rúmen. O sulfato também é redutor ( $\Delta G_T = -21,1$  kJ/mol de  $H_2$ ) e também competirá por elétrons, podendo reduzir a produção de metano (UNGERFELD E KOHN, 2006).

Van Zijderveld et al. (2010) avaliaram os efeitos da adição de nitrato e/ou de sulfato na dieta de ovinos (2,6% da matéria seca) sobre a emissão de metano, em câmaras respirométricas. A produção de metano foi reduzida com o uso dos suplementos (nitrato: -32%; sulfato: -16%; nitrato + sulfato: -47%). A redução na emissão de metano devido ao uso de nitrato foi mais pronunciada no período imediatamente após a alimentação, enquanto que a redução na metanogênese devido ao sulfato foi observada durante todo o dia. Os autores concluíram que, quando fornecidos de forma segura, os sais de nitrato e de sulfato são agentes potentes de mitigação de metano entérico.

## Vacinação contra metanogênicas ruminais

A vacinação contra metanogênicas ruminais tem o potencial de reduzir emissões de metano por meio do decréscimo do número ou da atividade desses microrganismos no rúmen. É provável que tenha bom custo-benefício e que seja uma das poucas opções práticas de mitigação para animais em pastejo. A vacinação em animais de produção é amplamente praticada para controle de doenças, e a aceitação dessa tecnologia por veterinários e produtores pode ser rápida se a mesma se mostrar eficaz na redução das emissões de metano (BUDDLE et al., 2010).

A eficácia da vacinação depende da ligação de anticorpos salivares à superfície das metanogênicas, o que resulta em inativação ou remoção das mesmas do rúmen. Portanto, o alvo primário da vacina é provavelmente proteínas de superfície ou aquelas associadas à membrana, presentes universalmente nas metanogênicas (BUDDLE et al., 2010). Essa estratégia envolve a vacinação dos animais para induzir expressiva produção de anticorpos salivares, que são liberados para o rúmen, a fim de neutralizar as metanogênicas ou reduzir a emissão de metano.

Cook et al. (2008) utilizaram a técnica de imunização passiva, utilizando gema de ovo de galinha como fonte rápida, econômica e não invasiva de produção de anticorpos (IgY), a partir da imunização das aves com vacinas preparadas de células íntegras de três cepas de metanogênicas ruminais. Os autores observaram que a adição de elevados níveis de anticorpos aviários (IgY) reduziu a produção de metano em culturas de líquido ruminal *in vitro*. Entretanto essa resposta não foi permanente, o que os autores atribuíram à possível instabilidade dos anticorpos no fluido ruminal, ou à presença de metanogênicas não cultivadas no preparo da vacina, não sendo, portanto, afetadas pelos anticorpos IgY.

Grande parte das metanogênicas ruminais não podem ser cultivadas em laboratório (WRIGHT et al., 2006) e, portanto, é possível que essas cepas não-cultiváveis cresçam para substituir as metanogênicas, contra

as quais os anticorpos têm sido gerados (McALLISTER et al., 2008). A diversidade das metanogênicas no rúmen pode ser influenciada tanto pela dieta como pela localização geográfica (WRIGHT et al., 2007), o que aumenta o desafio de desenvolver vacinas de amplo espectro contra metanogênicas, que sejam efetivas em diferentes condições de produção animal e em regiões geograficamente distintas.

Wright et al. (2004), avaliando a imunização de ovinos com preparado de células íntegras de três metanogênicas, observaram redução de 7,7% na emissão de metano. Entretanto, quando o estudo foi repetido com uma mistura de cinco metanogênicas, a vacinação não promoveu redução na metanogênese, embora tenha provocado mudança na composição da fauna microbiana no rúmen (WILLIAMS et al., 2009). Esse resultado enfatiza a dificuldade de produzir vacinas efetivas para reduzir a emissão de metano entérico, a partir em preparados de células inteiras (BUDDLE et al., 2010).

O desenvolvimento de vacinas recombinantes contra proteínas da superfície celular, presentes em ampla gama de espécies de metanogênicas pode melhorar a eficácia da vacinação como método de mitigação de metano entérico (McALLISTER et al., 2008). Buddle et al. (2010) propuseram o desenvolvimento de vacinas contra proteínas que são cruciais para o crescimento das metanogênicas e/ou para a metanogênese, e que apresentam reação cruzada para várias espécies, por meio de informações obtidas do sequenciamento genético da *M. ruminantium*.

## Bacteriófagos e bacteriocinas

Estratégias de controle biológico, tais como bacteriófagos e bacteriocinas, podem ser efetivas na inibição direta das *Archaea* metanogênicas e redirecionamento do H<sub>2</sub> para bactérias ruminais redutivas, como as produtoras de propionato ou acetogênicas (McALLISTER et al., 2008).

Os bacteriófagos estão presentes em todos os ecossistemas biológi-

cos e sua habilidade de penetrar e, subsequentemente, “lisar” a célula hospedeira faz dos bacteriófagos e seus genes, potenciais estratégias de mitigação (BUDDLE et al., 2010). Apenas seis *Archaeal fagos* foram sequenciados e descritos até o momento, e apenas dois são de metanogênicos: *Methanobacterium* phages psi M1 e M2, e *Methanothermobacter* phage psi M100 (PFISTER et al., 1998; LUO et al., 2001). O rápido mecanismo de adaptação dos microrganismos aos fagos representa desafio ao uso dessa estratégia, e maior número de fagos precisa ser identificado, os quais devem ser sequenciados e caracterizados para que sua utilização seja eficaz (BUDLE et al., 2010). Os fagos são altamente hospedeiro-específicos, o que representa outro fator limitante ao uso dessa estratégia para redução da emissão de metano, já que, aparentemente, há elevada diversidade de metanogênicos no rúmen (JANSEN E KIRS, 2008; McALLISTER et al., 2008).

Bacteriocinas são peptídeos bactericidas produzidos por bactérias e podem desempenhar importante papel na competição entre espécies de microrganismos por nichos dentro do ecossistema ruminal (McALLISTER et al., 2008). Entretanto, há pouca informação sobre seus efeitos sobre a metanogênese. Nisina, uma bacteriocina exógena produzida pelo *Lactococcus lactis* tem sido estudada como estratégia de mitigação de metano. Sar et al. (2005) avaliaram os efeitos de diferentes concentrações de nisina sobre a produção *in vitro* de metano por microrganismos ruminais em sistema de cultura contínua. Com o aumento da concentração de nisina de 5 para 30  $\mu\text{mol/L}$ , a produção de metano reduziu de 14 para 40%. A bacteriocina bovina HC5 produzida pelo *Streptococcus bovis* inibiu em até 50% a metanogênese *in vitro* (LEE et al., 2002).

A identificação de bacteriocinas estáveis no ambiente ruminal e específicas contra metanogênicas representa área para futuras pesquisas. São também necessários estudos *in vivo* para estabelecer a adaptabilidade e efetividade em longo prazo para o uso de bacteriocinas como aditivos alimentares (BOADI et al., 2004; McALLISTER et al., 2008).

## Manejo de pastagens e Sistemas de Integração

No Brasil, a maior parte das emissões de metano de origem entérica é proveniente de bovinos criados extensivamente (LIMA, 2002) em pastagens que, em grande proporção, encontram-se degradadas. Esse cenário gera ineficiência ao processo produtivo, ocasionando maiores emissões de metano por unidade de produto de origem animal produzido (GUIMARÃES JR. et al., 2010). Dentre as alternativas para mitigação de GEE pela pecuária destacam-se a melhoria da qualidade nutricional da dieta, pela utilização de forragens de melhor valor nutritivo, associadas ao manejo adequado da pastagem (DeRAMUS et al., 2003; LASSEY, 2007).

O investimento na recuperação de pastagens degradadas seria outra estratégia mitigadora de impacto. De acordo com o relatório da FAO (2006), as pastagens (nativas e cultivadas) representam a segunda maior fonte potencial global de sequestro de carbono (C), com capacidade de drenar da atmosfera 1,7 bilhão de toneladas por ano, ficando atrás somente das florestas, cuja capacidade estimada chega a 2 bilhões de t de C por ano. O uso de práticas de manejo adequadas em pastagens, sobretudo de reposição da fertilidade do solo, possibilita o acúmulo de C no solo a uma taxa de 0,3 t de C/ha/ano (IPCC, 2000), o que corresponde, aproximadamente, à mitigação de 1,1 t de CO<sub>2</sub>-equivalente/ha/ano. Esse valor, bastante conservador, seria suficiente para anular cerca de 80% da emissão anual de metano de um bovino de corte adulto, estimada em 57 kg (IPCC, 1996), que equivale a 1,42 t de CO<sub>2</sub> (57 kg de CH<sub>4</sub>/ano x 25 potencial de aquecimento global do gás = 1,42 t de CO<sub>2</sub>-Eq). Portanto, pastagens produtivas e manejadas adequadamente, além de propiciarem condições favoráveis para aumentos significativos no desempenho animal e índices zootécnicos, também podem absorver grande parte do carbono emitido pela atividade pecuária, tornando-se componente importante no balanço de GEE (GUIMARÃES JR. et al., 2010).

Áreas de pastagens bem manejadas podem ser importantes sítios de acúmulo de carbono no solo. Ao mesmo tempo, essas pastagens podem suportar taxas de lotação de bovinos de 1 a 3 UA/ha, com produtividade entre 300 e 1.000 kg de ganho de peso/ha/ano, de forma sustentável. A recuperação de pastagens degradadas é uma opção que não somente permite a retomada da produtividade animal, mas também mantém a integridade química e física do solo, com o simultâneo aumento dos estoques de carbono no solo (BODDEY et al., 2001).

Atualmente, a integração lavoura-pecuária (iLP) tem sido reconhecida como alternativa para redução das emissões de GEE pela agropecuária. O governo brasileiro incorporou a iLP na sua proposta apresentada na 15ª Reunião da Conferência das Partes (COP 15), do Painel Intergovernamental sobre Mudança do Clima, como uma das atividades mitigadoras nacionalmente aplicáveis (NAMAs) para redução de suas emissões de GEE. O governo se comprometeu a implantar essa tecnologia em 4 milhões de hectares, com impacto esperado de redução da ordem de 18 a 22 milhões de toneladas de CO<sub>2</sub>Eq até o ano de 2020. Além disso, faz parte da proposta, recuperar 15 milhões de ha de áreas de pastagens degradadas, o que reduziria de 83 a 104 milhões de toneladas de CO<sub>2</sub>Eq. Portanto, espera-se que nos próximos anos seja crescente o incentivo à adoção da iLP no país por meio de políticas públicas de crédito e de fomento (GUIMARÃES JR. et al., 2010).

## Metodologias de avaliação de emissão de metano entérico

Antes que estratégias de mitigação sejam desenvolvidas e aplicadas, é necessário possibilitar a mensuração das emissões de metano entérico de forma acurada, a fim de que sejam determinados os patamares de emissões para as práticas de manejo atualmente adotadas pelos sistemas de produção e para fins de elaboração de inventários nacionais.

Existem diferentes técnicas desenvolvidas para quantificar emissões de metano. A validação e aplicação dessas em diferentes sistemas de produção é importante para a credibilidade de atividades relacionadas

aos inventários nacionais de emissões de GEE pela pecuária, e o desenvolvimento de políticas públicas para atender às demandas globais de redução dos impactos ambientais das atividades agropecuárias.

As emissões de metano podem ser mensuradas, utilizando-se metodologias *in vivo* e *in vitro*. O uso e a manutenção de animais experimentais representam custos elevados. Conseqüentemente, os métodos *in vitro* geralmente são a opção inicial para a avaliação de estratégias de redução ou de inibição da produção de metano. As técnicas *in vitro* são as menos onerosas e rápidas para *screening* de dietas e suas combinações, além de permitirem a avaliação dos efeitos de grande diversidade de aditivos e ingredientes alimentares sobre a metanogênese (MAKKAR E VERCOE, 2007). As dietas, aditivos e inibidores capazes de reduzir a produção de metano *in vitro*, podem então serem avaliadas em ensaios *in vivo* mais detalhados e onerosos, contemplando situações práticas de alimentação.

Nas técnicas *in vitro*, uma amostra de líquido ruminal é utilizada para ajudar a simular as condições normais de fermentação ruminal, em cultura contínua ou em frascos de fermentação. A produção de metano pode então ser calculada pela mensuração da produção total de gases, amostragem dos gases produzidos e análise de sua composição, utilizando, por exemplo, cromatografia gasosa. A medição do volume de gases pode ser realizada com o auxílio de um transdutor de pressão ou voltímetros, conforme Maurício et al. (2003) e Schofield e Pell (1995), ou por deslocamento de água em sistema vaso comunicante (FEDORAH E HRUDEY, 1983). A coleta de alíquotas de gases dos frascos de fermentação, acondicionamento em *exetainers* e análise da concentração de CH<sub>4</sub> por cromatografia gasosa podem ser realizadas de acordo com Chaves et al. (2006).

O método *in vivo* referência (*Gold Standard*) para quantificar a produção de metano entérico, adotado pelos principais grupos de pesquisa sobre o assunto, envolve o uso de câmaras respirométricas, onde os animais são alocados e os gases emitidos são coleta-



dos para análise (RODRIGUEZ et al., 2007). A emissão de metano também pode ser mensurada com auxílio da inserção de indicadores no rúmen, conforme a metodologia do gás traçador Hexafluoreto de Enxofre - SF<sub>6</sub> (JOHNSON et al, 1994), que vem sendo adotada como método padrão para mensurações com animais em pastejo.

A técnica de respirometria em câmaras de fluxo aberto envolve a entrada de ar externo na câmara, com fluxo constante e conhecido. Amostras do ar externo e do ar interno da câmara são coletadas a intervalos de tempo determinados, e avaliadas quanto às concentrações de CH<sub>4</sub>, O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> para determinar o consumo de O<sub>2</sub> e a produção de CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>. Nos estudos de partição de energia, a produção de calor pelo animal pode então ser calculada pela equação de Brouwer (1965), permitindo a determinação dos teores de energia líquida dos alimentos e das exigências energéticas dos animais. Essa técnica apresenta como vantagens a precisão na quantificação dos gases produzidos e consumidos pelo animal, e a possibilidade de avaliar em conjunto os dados de emissão de metano e os parâmetros de metabolismo energético do animal. Por ser o método mais preciso e por mensurar a emissão total de metano entérico (respiração, eructação e ejeção retal), a técnica de respirometria é utilizada como padrão para validar e desenvolver fatores de correção para as demais técnicas *in vivo*. Entretanto, o uso de câmaras respirométricas tem como limitações o alto investimento necessário em estrutura física, mão-de-obra e equipamentos; a restrição à movimentação dos animais; e a limitação ao número de animais simultaneamente avaliados. Descrições de sistemas convencionais de respirometria de circuito aberto podem ser encontradas nos trabalhos de Yong et al. (1975), Bryant et al. (1977); McLean e Tobin (1987) e Miller e Koes (1988). Já versões mais modernas desse sistema são descritas por Grainger et al. (2007), Odongo et al. (2007) e Rodríguez et al (2007).

A técnica do gás traçador SF<sub>6</sub> tem sido utilizada, principalmente, para mensurar a emissão de metano em animais sob pastejo (JOHNSON et al., 1994; LASSEY et al., 1997; WOODWARD et al., 2006). Um peque-

no tubo de permeação contendo SF<sub>6</sub>, cuja taxa de liberação é conhecida, é inserido no rúmen do animal. O ar expirado é amostrado através de um tubo capilar de aço inoxidável (adaptado ao cabresto) conectado à canga (recipiente fabricado com cano de PVC de alta resistência, submetido a vácuo interno), ao qual é acoplada uma válvula de metal com septo para amostragens de gases e engate rápido. As concentrações de CH<sub>4</sub> e SF<sub>6</sub> são determinadas por cromatografia gasosa. A partir da taxa conhecida de liberação do SF<sub>6</sub> no rúmen e das concentrações de CH<sub>4</sub> e SF<sub>6</sub> nas amostras de gás medidas, pode ser calculado o fluxo de metano liberado pelo animal (JOHNSON E JOHNSON, 1995; USEPA, 2000). Essa técnica elimina a necessidade de contenção do animal, permitindo que ele se mova e pasteje (JOHNSON et al., 2007).

Vários estudos foram conduzidos para comparar as estimativas de produção de metano a partir da técnica do traçador SF<sub>6</sub> com as mensurações realizadas em câmaras respirométricas de fluxo aberto. Estudos com bovinos de corte e ovinos indicaram que a produção de CH<sub>4</sub> estimada com a técnica do traçador SF<sub>6</sub> correspondeu a 93 a 95% daquela mensurada em câmaras respirométricas (JOHNSON et al., 1994; ULYATT et al., 1999; MCGINN et al., 2006). Os menores valores estimados para a técnica do traçador SF<sub>6</sub> são parcialmente explicados pela liberação de metano via retal (MURRAY et al., 1976). Grainger et al. (2007) compararam as emissões de metano por vacas leiteiras, utilizando a técnica do traçador SF<sub>6</sub> e câmara respirométrica e observaram valores semelhantes (331 x 322 g de CH<sub>4</sub>/dia/vaca). Maior variabilidade dentro de vacas entre os dias de mensuração e maior variabilidade entre vacas foram obtidas para o SF<sub>6</sub> (CV = 6,1 e 19,6%) do que para as câmaras (CV = 4,3 e 17,8%). Os autores realizaram meta-análise dos dados de emissão de três diferentes locais e observaram que a técnica do traçador SF<sub>6</sub> resultou em valores 8% inferiores aos mensurados em câmaras. Assim, é importante o desenvolvimento de fatores de correção para as emissões mensuradas pela técnica SF<sub>6</sub> a partir dos valores obtidos em câmaras respirométricas.

Outras técnicas vêm sendo desenvolvidas para quantificar a emissão de metano entérico por ruminantes. Madsen et al. (2010) descreveram

um método baseado no uso do  $\text{CO}_2$  como indicador interno. Ou seja, a produção de metano pode ser estimada a partir da produção de  $\text{CO}_2$  (conhecida ou estimada) pelo animal, associada às concentrações de  $\text{CO}_2$  e  $\text{CH}_4$  no ar atmosférico e na amostra de ar (contendo mistura de ar atmosférico e gases excretados pelo animal). A eliminação de  $\text{CO}_2$  pelo animal pode ser calculada a partir de dados de Nutrição Animal obtidos em câmara respirométrica, mostrando estreita relação entre a produção de  $\text{CO}_2$  e a de calor, quando diferentes nutrientes são metabolizados, considerando-se 21,5 a 22,0 kJ/L de  $\text{CO}_2$  para dietas normais (CHWALIBOG, 1991). A produção de calor pode ser obtida pela diferença entre a EM consumida e a energia presente nos produtos (ganho de peso e produção de leite). E as concentrações de  $\text{CO}_2$  e  $\text{CH}_4$  no ar podem ser obtidas rapidamente com o uso de aparelhos portáteis.

No IPCC (2006) foi reportada a necessidade dos países gerarem informações específicas, incluindo nos modelos de predição da emissão de metano entérico, dados como: composição das dietas, composição dos produtos da fermentação entérica, sazonalidade, caracterização da população animal e da qualidade e disponibilidade do alimento, e inclusão de estratégias de mitigação. Para isso, a mensuração de emissão de metano entérico em experimentos bem documentados é fundamental. Os inventários nacionais e mundiais de emissões de GEE baseiam-se em modelos matemáticos, os quais também são importantes no desenvolvimento de estratégias de mitigação. Os modelos mecanísticos e de regressão permitem analisar as causas e variações na produção de metano (ELLIS et al., 2008a). Existem várias equações de regressão na literatura (KRISSE, 1930; AXELSSON, 1949; BLAXTER E CLAPPERTON, 1965; MOE E TYRREL, 1979; MILLS et al., 2003; ELLIS et al., 2007; ELLIS et al., 2008a). Provavelmente, a melhor equação para predição da produção de  $\text{CH}_4$  dependerá da dieta sendo consumida, e se a equação considera as variáveis mais importantes para cada situação específica (ELLIS et al., 2008a). A utilização de modelagem já vem sendo aplicada aos estudos de emissão de metano e constitui importante ferramenta para o desenvolvimento de inventários de GEE e em estratégias de mitigação.

## Considerações Finais

A emissão de metano por ruminantes é consequência dos processos fermentativos gastrintestinais, que garantem a estes animais a habilidade de transformar alimentos grosseiros, ricos em celulose, em alimentos (leite e carne) e produtos fundamentais para a evolução e desenvolvimento da humanidade.

O levantamento do potencial de emissão de metano pelos diferentes sistemas agropecuários, bem como a avaliação de estratégias mitigatórias, deve ser realizado sob visão holística, levando-se em consideração a dinâmica e o balanço de carbono em todo o sistema de produção.

As Instituições de pesquisa nacionais têm papel fundamental no desenvolvimento de inventários sobre a emissão de GEE no Brasil, possibilitando o questionamento dos dados apresentados pelas organizações internacionais e o desenvolvimento de soluções sustentáveis para os sistemas de produção. Diante disso, torna-se necessário o planejamento de projetos de pesquisa multidisciplinares e interinstitucionais que atendam a essa demanda da sociedade.

Existem diversas estratégias nutricionais para mitigação de metano entérico sendo estudadas e desenvolvidas. Todas apresentam diferentes viabilidades, custos e possibilidades de aceitação pelos produtores. A escolha de qual ou quais adotar deve ser baseada na capacidade de redução das emissões, associada à viabilidade econômica de adoção e manutenção ou melhoria do desempenho animal.

O incremento nos índices zootécnicos, passíveis de serem atingidos com melhorias nos sistemas de produção (principalmente, aqueles relacionados ao uso eficiente das pastagens), associado às boas práticas de manejo nutricional, sanitário e reprodutivo, são estratégias importantes para a consolidação do Brasil como produtor de alimento para o mundo, respeitando as demandas relacionadas ao uso da terra e da água, à conservação da biodiversidade e à emissão de GEE.

## Referências

- ASANUMA, N.; IWAMOTO, M.; HINO, T. Effect of the addition of fumarate on methane production by ruminal microorganisms in vitro. **Journal of Dairy Science**, v.82, p. 780–787, 1999.
- ATTWOD, G. T.; KELLY, W. J.; ALTERMANN, E. H.; LEAHY, S. C. Analysis of the *Methanobrevibacter ruminantium* draft genome: understanding methanogen biology to inhibit their action in the rumen. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, p. 83-88, 2008.
- AXELSSON, J. The amount of produced methane energy in the European metabolic experiments with adult cattle. **Annual Report of Agricultural College**, v. 16, p. 404-419, 1949.
- BANNINK, A.; KOGUT, J.; DIJKSTRA, J.; FRANCE, J.; KEBREAB, E.; VAN VUUREN, A. M.; TAMMINGA, S. Estimation of the stoichiometry of volatile fatty acid production in the rumen of lactating cows. **Journal of Theoretical Biology**, v. 238, p. 36-51, 2006.
- BARIONI, L. G.; LIMA, M. A. DE; ZEN, S.; GUIMARÃES JÚNIOR, R.; FERREIRA, A. C. Abaseline projection of methane emissions by the Brazilian beef sector: preliminary results. In: GREENHOUSE GASES AND ANIMAL AGRICULTURE CONFERENCE, 2007, Christchurch, New Zealand. **Proceedings...** Christchurch, 2007.
- BARRAGRY, T. B. Growth-promoting agents. In: **Veterinary drug therapy**. Philadelphia: Lea e Febiger, 1994. p.597-654.
- BENCHAAR, C.; POMAR, C.; CHIQUETTE, J. Evaluation of dietary strategies to reduce methane production in ruminants: a modelling approach. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 81, p. 563–574, 2001.
- BERCHIELLI, T.T.; PEDREIRA, M.S.; OLIVEIRA, S.G; PRIMAVESI, O.; LIMA, M.; FRIGUETO, R.T.S. Determinação da produção de metano e pH ruminal em bovinos de corte alimentados com diferentes relações

volumoso: concentrado. Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: SBZ, 2003. CD-ROM.

BEAUCHEMIN, K.A.; KREUZER, M.; O'MARA, F.; MCALLISTER, T. A. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, p. 21–27, 2008.

BEAUCHEMIN, K. A.; MCGINN, S. M. Methane emissions from feedlot cattle fed barley or corn diets. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 653–661, 2005.

BIRD, S. H.; HEGARTY, R. S.; WOODGATE, R. Persistence of defaunation effects on digestion and methane production in ewes. **Australian Journal Experimental Agriculture**, v. 48, p. 152-155, 2008.

BLAXTER, K. L. **Energy Metabolism in Animals and Man**. New York: Cambridge University Press, 1989. 340 p.

BLAXTER, K. L.; CLAPPERTON, J. L. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. **British Journal of Nutrition**, v. 19, p. 511-522, 1965.

BOADI, D.; BENCHAAAR, C.; CHIQUETTE, J.; MASSÉ, D. Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: update review. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 830, p. 319-335, 2004.

BRAUN, M.; SCHOBERTH, S.; GOTTSCHALK, G. Enumeration of bacteria forming acetate from H<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> in anaerobic habitats. **Archives for Microbiology**, v. 120, 201-204, 1979.

BROSSARD, L.; MARTIN, C.; CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; MICHALET-DOREAU, B. Protozoa at the origin of butyric and non-lactic latent acidosis in sheep. **Reproduction Nutrition Development**, v. 44, p. 195–206, 2004.

BROUWER, E. Report of subcommittee on constants and factors. In: Blaxter, K. L. (Ed.). **Proceedings of the 3 Symposium on energy Metabolism**. London: EAAP Academic, 1965. p. 441-443.

BUDDLE, B. M.; DENIS, M.; ATTWOOD, G. T.; ALTERMANN, E.; JANSSEN, P. H.; RONIMUS, R. S.; PINARES-PATIÑO, C. S.; MUETZEL, S.; WEDLOCK, D. N. Strategies to reduce methane emissions from farmed ruminants grazing on pasture. **Veterinary Journal**, v. 188, p. 11-17, 2011.

BUSQUET, M.; CALSAMIGLIA, S.; FERRET, A.; CARRO, M. D.; KAMEL, C. Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 4393-4404, 2005.

CALLAWAY, T. R.; MARTIN, S. A.; WAMPLER, J. L.; HILL, N. S.; HILL, G. M. Malate content of forage varieties commonly fed to cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1651-1655, 1997.

CASTILLO, C.; BENEDITO, J. L.; MÉNDEZ, J. Organic acids as a substitute for monensina in diets for beef cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 115, p. 101-116, 2004.

CASTRO, G. H. F.; RODRIGUEZ, N. M.; GONÇALVES, L. C.; TEIXEIRA, A. M.; VELASCO, F. O. Produção de metano em ovinos consumindo volumosos tropicais. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 46., 2009, Maringá. **Anais...** Maringá: SBZ, 2009.

CHAUCHEYRAS-DURAND, F.; WALKER, N.D.; BACH, A. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: past, present and future. **Animal Feed Science and Technology** v. 145, p. 5-26, 2008.

CHAUCHEYRAS, F.; FONTY, G.; BERTIN, G.; GOUET, P. In vitro H<sub>2</sub> utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with *Archaea Methanogen* is stimulated by a probiotic strain of *Sacharomyces cereviseae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, p. 3466, 1995.

CHAVES, A. V.; THOMPSON, L. C.; IWAASA, A. D. Effect of pasture type (alfafa vs. grass) on methane and carbon dioxide production by yearling beef heifers. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 86, p. 409-418, 2006.

CHWALIBOG, A. **Husdyrernaering**. Bestemmelse af naeringsvaerdi og naeringsbehov. Copenhagen: DRS forlag, 1991. 180 p.

CONRAD, R.; SCHINK, B.; PHELPS, T. J. Thermodynamics of H<sub>2</sub>-consuming and H<sub>2</sub>-producing metabolic reactions in diverse methanogenic environments under in situ conditions. **FEMS Microbiology Letters**, v. 38, n. 6, p. 353-360, 1986.

COOK, S. R.; MAITI, P. K.; CHAVES, A. V.; BENCHAAAR, C.; BEAUCHEMIN, K. A.; MCALLISTER, T. A. Avian (IgY) anti-methanogen antibodies for reducing ruminal methane production: in vitro assessment of their effects. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, p. 260-264, 2008.

CORD-RUWISCH, R.; SIETZ, H. J.; CONRAD, R. The capacity of hydrogenotrophic anaerobic bacteria to compete for traces of hydrogen depends on the redox potential of terminal electron acceptor. **Archives of Microbiology**, v. 149, p. 350-357, 1988.

COSGROVE, G.P.; WAGHORN, G.C.; ANDERSON, C.B.; PETERS, J.S.; SMITH, A.; MOLANO, G.; DEIGHTON, M. The effect of oils fed to sheep on methane production and digestion of ryegrass pasture. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, p. 189-192, 2008.

CRESPO, N.P.; PUYALTO, M.; CARRO, M.D.; RANILLA, M.J.; MESIA, J. Acidos orgánicos en dietas para rumiantes. **Albéitar**, v. 57, p. 48-50, 2002.

Cotton, W.R.; Pielke, R.A. **Human impacts on weather and climate**. Cambridge: Cambridge University, 1995. 288 p.



CZERKAWSKI, J. W. Methane production in ruminants and its significance. **World Review of Nutrition and Dietetics**, v. 11, p. 240-282, 1969.

CZERKAWSKI, J. W. Degradation of solid feeds in the rumen: spatial distribution of microbial activities and its consequences. In: Milligan, L. P.; Grovum, W. L.; Dobson, A. (Eds). **Control of digestion and Metabolism in ruminants**. New Jersey: Prentice-Hall, 1986. p. 158-172.

DAVIES, A.; NWAONU, H. N.; STANIER, G.; BOYLE, F. T. Properties of a novel series of inhibitors of rumen methanogenesis; in vitro and in vivo experiments including growth trials on 2, 4- bis (trichloromethyl)-benzo [1,3] dioxin-6-carboxylic acid. **British Journal of Nutrition**, v. 47, p. 565, 1982.

DERAMUS, H. A.; CLEMENT, T. C.; GIAMPOLA, D. D.; DICKSON, P. C. Methane emissions of beef cattle on forrages: efficiency of grazing management systems. **Journal of Environment Quality**, v. 32, n. 1, p. 269-277, 2003.

DEHORITY, B. A. **Rumen Microbiology**. Nottingham: Nottingham University Press, 2003. 372 p.

DEMEYER, D. I.; HENDERICKX, H. K. Competitive inhibition of in vitro methane production by mixed rumen bacteria. **Archives Internationals de Physiologie et de Biochimie**, v. 75, p. 157-159, 1967.

DENMAN, S. E.; TOMKINS, N. W.; MCSWEENEY, C. S. Quantitative and diversity analysis of ruminal methanogenic populations in response to antimethanogenic compound bromochloromethane. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 62, p. 313-322, 2007.

DOHME, F.; MACHMULLER, A.; WASSERFALLEN, A.; KREUZER, M. Ruminal methanogenesis as influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets. **Letters in Applied Microbiology**, v. 32, p. 47-51, 2001.

- DOREAU, M.; FERLAY, A. Effect of dietary lipids on nitrogen metabolism in the rumen: a review. **Livestock Production Science**, v. 43, p. 97–110, 1995.
- ECKARD, R. J.; GRAINGER, C.; KLEIN, C.A.M. Options for the abatement of methane and nitrous oxide from ruminant production: a review. **Livestock Science**, v. 130, p. 47-56, 2010.
- ELLIS, J. L.; KEBREAB, E.; ODONGO, N.E.; MCBRIDE, B. W.; OKINE, E. K.; FRANCE, J. Prediction of methane production from dairy and beef cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 3456-3466, 2007.
- ELLIS, J. L.; DIJKSTRA, J.; KEBREAB, E.; BANNINK, A.; ODONGO, N. E.; MCBRIDE, B. W.; FRANCE, J. Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modeling of methane production in cattle. **Journal Agricultural Science**, v. 146, p. 212-233, 2008a.
- ELLIS, J. L.; KEBREAB, E.; ODONGO, N. E.; BEAUCHEMIN, K.; MCGINN, S.; NKUMAH, J. D.; MOORE, S. S.; CHRISTOPHERSON, R.; MURDOCH, G. K.; MCBRIDE, B. W.; OKINE, E. K.; FRANCE, J. Modeling methane production from beef cattle using linear and nonlinear approaches. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 1334-1345, 2008b.
- ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. Greenhouse gas emissions from agricultural systems. In: WORKSHOP ON GREENHOUSE GAS EMISSIONS FROM AGRICULTURE, 1989, Washington. **Proceedings...** Washington: United States Environmental Protection Agency, 1990. v.1, p.VII-3-VII-22. Summary report.
- EUGÈNE, M.; ARCHIMÈD, H.; SAUVANT, D. Quantitative meta-analysis on the effects of defaunation of the rumen on growth, intake and digestion in ruminants. **Livestock Production Science**, v. 85, p. 81-97, 2004.
- EUN, J. S.; FELLNER, V.; GUMPERTZ, M.L. Methane production by mixed ruminal cultures incubated in dual-flow fermentors. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p.112-121, 2004.

FIELD J. A.; KORTEKAAS, S.; LETTINGA, G. The tannin theory of methanogenic toxicity. **Biological Wastes**, v. 29, p. 241–262, 1989.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAO statistical databases**. Rome, 2006. Disponível em <<http://faostat.fao.org>> Acesso em 4 de junho de 2010.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of Food and Agriculture. **Livestock in the balance**. Roma: FAO, 2009. 166 p. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/012/i0680e/i0680e.pdf>>. Acesso em: 05 fev. 2010.

FINLAY, B. J.; ESTEBAN, G.; CLARKE, K. J.; WILLIAMS, A. G.; EMBLEY, T. M; HIRT, R. P. Some rumen ciliates have endosymbiotic methanogens. **FEMS Microbiology Letters**, Delft, v. 117, p. 157-161, 1994.

GARCIA-GONZÁLEZ, R.; GONZÁLEZ, J. S.; LÓPEZ, S. Decrease of ruminal methane production in rusitec fermenters through the addition of plant material from rhubarb (*Rheum* spp.) and alder buckthorn (*Frangula alnus*). **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 3755-3763, 2010.

GENTHNER, B. R. S.; DAVIS, C. L.; BRYANT, M. P. Features of rumen and sludge strains of *Eubacterium limosum*, a methanol and H<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>-utilising species. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 42, p. 12-19, 1981.

GOEL, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Inhibition of microbial methanogens by bromochloromethane: effects on microbial communities and rumen fermentation using batch and continuous fermentations. **British Journal Nutrition**, v. 101, p. 1484-1492, 2009.

GRAINGER, C.; CLARKE, T.; MCGINN, S. M.; AULDIST, M. J.; BEAUCHEMIN, K. A.; HANNAH, M. C.; WAGHORN, G. C.; CLARK, H.; ECKARD, R. J. Methane emissions from dairy cows measured using the sulfur hexafluoride (SF<sub>6</sub>) tracer and chamber techniques. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 27455-2766, 2007.

GRAINGER, C.; WILLIAMS, R.; ECKARD, R. J.; HANNAH, M. C. A high dose of monensina does not reduce methane emissions of dairy cows offered pasture supplemented with grain. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 5300-5308, 2010a.

GRAINGER, C.; WILLIAMS, R.; CLARKE, T.; WRIGHT, A. D.; ECKARD, R. J. Supplementation with whole cottonseed causes long-term reduction of methane emissions from lactating dairy cows offered a forage and cereal grain diet. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 2612-2619, 2010b.

GUAN, H.; WITTENBERG, K. M.; OMINSKI, K. H.; KRAUSE, D. O. Efficacy of ionophores in cattle diets for mitigation of enteric methane. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 1896–1906, 2006.

GUIMARÃES JÚNIOR, R.; MARCHAO, R. L.; VILELA, L.; PEREIRA, L. G. R. Produção animal na integração lavoura-pecuária. In: Simpósio Mineiro de Nutrição de Gado de Leite, 5., 2010, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: UFMG, 2010. p. 111-123.

GUO, Y. Q.; LIU, J. X.; LU, Y.; ZHU, W. Y.; DENMAN, S. E.; McSWEENEY, C. S. Effect of tea saponin on methanogenesis, microbial community structure and expression of *mcrA* gene, in cultures of rumen micro-organisms. **Letters in Applied Microbiology**, v. 47, p. 421–426, 2008.

HARPER, L. A.; DENMEAD, O. T.; FRENEY, J. R.; BYERS, F. M. Direct measurements of methane emissions from grazing and feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 1392–1401, 1999.

HEGARTY, R. S. Reducing rumen methane emissions through elimination of rumen protozoa. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 50, p. 1321–1327, 1999.

HEGARTY, R. **Greenhouse gas emissions from the Australian livestock sector what do we know, what can we do?** Canberra: NSW Agriculture Australian Greenhouse Office, 2001. 35 p.

HEGARTY, R. S.; BIRD, S. H.; VANSELOW, B. A.; WOODGATE, R. Effects of the absence of protozoa from birth or from weaning on the growth of microorganisms. **Biotechnology Bioengineering**, v. 39, p. 833-858, 2008.

Heijnen, J. J.; van Dijken, J. P. In search of a thermodynamic description of biomass yield for the chemotrophic growth of microorganisms. **Biotechnology Bioengineering**, v. 39, p. 833-858, 1992.

HEIJNEN, J. J.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M.; TIJHUIS, L. A black box mathematical model to calculate auto and heterotrophic biomass yields based on Gibbs energy dissipation. **Biotechnology Bioengineering**, v. 40, p. 1139-1154, 1992.

HESS, H. D.; BEURET, R. A.; LOTSCHER, M.; HINDRICHSEN, I. K.; MACHMULLER, A.; CARULLA, J. E.; LASCANO, C. E.; KREUZER, M. Ruminal fermentation, methanogenesis and nitrogen utilization of sheep receiving tropical grass hay-concentrate diets offered with *Sapindus saponaria* fruits and *Cratylia argentea* foliage. **Animal Science**, v. 79, p. 177-189, 2004.

HOLTER, J. B.; YOUNG, A. J. Methane prediction in dry and lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2165-2175, 1992.

HUNGATE, R. E.; SMITH, W.; BAUCHOP, T.; YU, I.; RABINOWITZ, J. C. Formate as an intermediate in the rumen fermentation. **Journal of Bacteriology**, v. 102, p. 384-397, 1970.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2006**. Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação. Rio de Janeiro: IBGE, 2009. 777 p. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/default.php>>. Acesso em: 05 fev. 2010.

IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change. **Climate change 1994: radiative forcing of climate change and an evaluation of the IPCC IS92 emission scenarios**. Cambridge: University Press, 1995. 339 p.

IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change. Emissions from livestock and manure management. In: Eggleston, H. S.; Buendia, L.; Miwa, K.; Ngara, T.; Tabane, K. (eds). **IPCC Guidelines for national greenhouse gas inventories**. Hayama: IGES, 2006. p. 747-846.

IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change. **Fourth Assessment Report (AR4): Mitigation of Climate Change**. Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2007. Disponível em: <[http://www.ipcc.ch/publications\\_and\\_data/ar4/wg3/en/contents.html](http://www.ipcc.ch/publications_and_data/ar4/wg3/en/contents.html)>. Acesso em: 30 nov. 2010.

JANSSEN, P. H.; KIRS, M. Structure of the archaeal community of the rumen. **Applied Environmental Microbiology**, v. 74, p. 3619-3625, 2008.

JANSEEM, P. H. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. **Animal Feed Science and Technology**, v. 160, p. 1-22, 2010.

JOBLIN, K.N. Ruminant acetogens and their potential to lower ruminant methane emissions. **Australian Journal Agricultural Research**, v. 50, n. 8, p. 1321-1327, 1999.

JOHNSON, K. A.; KINCAID, R. L.; WESTBERG, H. H.; GASKINS, C. T.; LAMB, B. K.; CRONRATH, J. D. The effect of oilseeds in diets of lactating cows on milk production and methane emissions. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 1509-1515, 2002a.

JOHNSON D. E.; PHETTEPLACE, H. W.; SEIDL, A .F. Methane, nitrous oxide and carbon dioxide emissions from ruminant livestock production systems. In: Takahashi, J.; Young, B. A. (Eds.). **Greenhouse gases and animal agriculture**. Amsterdam: Elsevier, 2002b. p. 77-85.

JOHNSON, K.; HUYLEM, M.; WESTBERG, H.; LAMB, B.; ZIMMERMAN, P. Measurement of methane emissions from ruminant

livestock using a SF<sub>6</sub> tracer technique. **Environmental Science Technology**, v. 28, p. 359-362, 1994.

JOHNSON, K. A.; JOHNSON, D. E. Methane Emissions from Cattle. **Journal Animal Science**, v. 73, p. 2483-2492, 1995.

JOHNSON, D. E.; WARD, G. M. Estimates of animal methane emissions. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 42, p. 133-141, 1996.

JORDAN, E.; KENNY, D.; HAWKINS, M.; MALONE, R.; LOVETT, D. K.; O'MARA, F. P. Effect of refined soy oil or whole soybeans on intake, methane output, and performance of young bulls. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 2418-2425, 2006a.

JORDAN, E.; LOVETT, D. K.; MONAHAN, F.J.; CALLAN, J.; FLYNN, B.; O'MARA, F. P. Effect of refined coconut oil or copra meal on methane output and on intake and performance of beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 84, p. 162-170, 2006b.

KAHARABATA, S. K.; SCHUEPP, P.; DESJARDINS, R. L. Estimating methane emissions from dairy cattle housed in a barn and feedlot using an atmospheric tracer. **Environmental Science Technology**, v. 34, n. 15, p. 3296-3302, 2000.

KLIEVE, A. V.; JOBLIN, K. Comparison in hydrogen utilisation of ruminal and marsupial reductive acetogens. In: Kennedy, R. (Ed.). **5 year research progress report 2002-2007**. Wellington: The Pastoral Greenhouse Gas Research Consortium, 2007. p. 34-35.

KOLVER, E. S.; DE VETH, M. J. Prediction of ruminal pH from pasture-based diets. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 1255-1266, 2002.

KRISS, M. Quantitative relations of the dry matter of the food consumed, the heat production, the gaseous outgo, and insensible loss in body weight of cattle. **Journal of Agricultural Research**, v. 40, p. 283-295, 1930.

LANA, R. P.; RUSSELL, J. B.; VAN AMBURGH, M. E. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 2190-2196, 1998.

LASSEY, K. R. Livestock methane emission: from the individual grazing animal through national inventories to the global methane cycle. **Meteorology Agricultural and Forest**, n. 142, p. 120-132, 2007.

LASSEY, K. R.; ULYATT, M. J.; MARTIN, R. J.; WALKER, C. F.; SHELTON, I. D. Methane emissions measured directly from grazing livestock in New Zealand. **Atmospheric Environment**, v. 31, p. 2905-2914, 1997.

LEAHY, S. C.; KELLY, W. J.; ALTERMANN, E.; RONIMUS, R. S.; YEOMAN, C. J.; PACHECO, D. M.; LI, D.; KONG, Z.; MCTAVISH, S.; SANG, C.; LAMBIE, S. C.; JANSSEN, P. H.; DEY, D.; ATTWOOD, C. T. The genome sequence of the rumen methanogen *Methanobrevibacter ruminantium* reveals new possibilities for controlling ruminant methane emission. **PLoS ONE**, v. 5, n. 1, p. e8926, 2010.

LEEDLE, J. A. Z.; GREENING, R. C. Postprandial changes in methanogenic and acidogenic bacteria in the rumens of steers feed high-or low-forage diets once daily. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 54, p. 502-506, 1988.

LE VAN, T. D.; ROBINSON, J. A.; RALPH, J.; GREENING, R. C.; SMOLENSKI, W. J.; LEEDLE, J. A. Z.; SCHAEFER, D. M. Assessment of reductive acetogenesis with indigenous ruminal bacterium populations and *Acetitomaculum ruminis*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 3429-3436, 1998.

LIMA, M. A. Agropecuária brasileira e as mudanças climáticas globais: caracterização do problema, oportunidades e desafios. **Caderno de Ciência & Tecnologia**, v. 19, p. 451-472, 2002.

LIMA, M. A.; PESSOA, A. M. C. P. Y.; LIGO, M. A. V. **Primeiro**



**inventário brasileiro de emissões antrópicas de gases de efeito estufa.**

Relatórios de referência: emissões de metano da pecuária. Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia, 2006. 77 p.

LOVETT, D. K.; SHALLOO, L.; DILLON, P.; O'MARA, F. P. A systems approach to quantify greenhouse gas fluxes from pastoral dairy production as affected by management regime. **Agricultural Systems**, v. 88, p. 156–179, 2006.

LOVETT, D. K.; LOVELL, S.; STACK, L.; CALLAN, J.; FINLAY, M.; CONOLLY, J.; O'MARA, F. P. Effect of forage/concentrate ratio and dietary coconut oil level on methane output and performance of finishing beef heifers. **Livestock Production Science**, v. 84, p. 135–146, 2003.

LÓPEZ, S.; VALDÉS, C.; NEWBOLD, C. J.; WALLACE, R.J. Influence of sodium fumarate addition on rumen fermentation in vitro. **British Journal Nutrition**, v. 81, p. 59–64, 1999.

MACKIE, R. I.; BRYANT, M. P. Acetogenesis and the rumen: syntrophic relationships. In: Drake, H. L. (Ed.). **Acetogenesis**. New York: Chapman and Hall, 1994. p. 331-364.

MACHMULLER, A.; KREUZER, M. Methane suppression by coconut oil and associated effects on nutrient and energy balance in sheep. **Canadian Journal Animal Science**, v. 79, p. 65–72, 1999.

MACHMULLER, A.; SOLIVA, C. R.; KREUZER, M. Methane-suppressing effect of myristic acid in sheep as affected by dietary calcium and forage proportion. **British Journal of Nutrition**, v. 90, p. 529–540, 2003.

MADES, J.; BJERG, B. S.; HVELPLUND, T.; WEISBJERGB, M. R.; LUNDB, P. Methane and carbon dioxide ratio in excreted air for quantification of the methane production from ruminants. **Livestock Science**, v. 129, p. 223-227, 2010.

MAIA, M. R. G.; CHAUDHARY L. C.; FIGUERES, L.; WALLACE R. J. Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 91, p. 303–314, 2007.

MARTIN, S. A. Manipulation of ruminal fermentation with organic acids: a review. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 3123–3132, 1998.

MARTIN, C.; DUBROEUCQ, H.; MICOL, D.; AGABRIEL, J.; DOREAU, M. Methane output from beef cattle fed different high-concentrate diets. In: **Proceedings of the British Society of Animal Science**, 2007, Southport: BSAS. p. 46.

MARTIN, C.; ROUEL, J.; JOUANY, J. P.; DOREAU, M.; CHILLIARD, Y. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 2642–2650, 2008.

MARTIN, C.; MORGAVI, D. P.; DOREAU, M. Methane mitigation in ruminants: from microbes to the farm scale. **Animal**, v. 4, n. 3, p. 351–365, 2009a.

MARTIN, C.; FERLAY, A.; CHILLIARD, Y.; DOREAU, M. Decrease in methane emissions in dairy cows with increase in dietary linseed content. In: **Proceedings of the British Society of Animal Science**, 2009, Southport: BSAS. p. 30.

MARTIN, S. A.; PARK, C. M. Effect of extracellular hydrogen on organic acid utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. **Current Microbiology**, v. 32, p. 327–331, 1996.

MCALLISTER, T. A.; BAE, H. D.; JONE, G. A.; CHENG, K. J. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. **Journal of Animal Science**. v. 72, p. 3004-3018, 1994.

MCALLISTER, T. A.; OKINE, E. K.; MATHISON, G. W.; CHENG, K.

J. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 76, p. 231-243, 1996.

MCALLISTER, T. A.; NEWBOLD, C. J. Redirecting rumen methane to reduce methanogenesis. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 48, p. 7-13, 2008.

MCCOURT, A. R.; YAN, T.; MAYNE, S.; WALLACE, J. Effect of dietary inclusion of encapsulated fumaric acid on methane production from grazing dairy cows. In: **Proceedings of the British Society of Animal Science**, 2008, Scarborough, UK. p. 64.

MCCAUGHEY, W. P.; WITTENBERG, K.; CORRIGAN, D. Impact of pasture type on methane production by lactating beef cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 79, p. 221–226, 1999.

MCGINN, S. M.; BEAUCHEMIN, K. A.; COATES, T.; COLOMBATTO, D. Methane emissions from beef cattle: effect of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast and fumaric acid. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 3346–3356, 2004.

MCGUFFEY, R. K.; RICHARDSON, L. F.; WILKINSON, J. I. D. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, v. 84, (Sup.), p. E194–E203, 2001.

MCT – MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA. **Inventário Brasileiro das Emissões e Remoções Antrópicas de Gases de Efeito Estufa**. Informações Gerais e Valores Preliminares, 2009. Disponível em: Acesso em: <<http://www.mct.gov.br>>. Acesso em: 18 fev. 2010.

MILLS, J. A. N.; KEBREAB, C. M.; YATES, L. A.; CROMPTON, L. A.; CAMMELL, S. B.; DHANOA, R. E.; FRANCE, J. Alternatives approaches to predicting methane emissions from dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 3141-3150, 2003.

MOE, P. W.; TYRREL, H. F. Methane production in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 62, p. 1583-1586, 1979.

MORAIS, J. A. S.; BERCHIELLI, T. T.; REIS, R. A. Aditivos. In: Berchielli, T. T.; Pires, A. V.; Oliveira, S.G. **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p. 111-140.

MORGAVI, D. P.; FORANO, E.; MARTIN, C.; NEWBOLD, J. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. **Animal**, v. 4, n. 7, p. 1024-1036, 2010.

MORVAN, B.; DORÉ, J.; RIEU-LESME, F.; FOUCAT, L.; FONTY, G.; GOUET, P. Establishment of hydrogen-utilizing bacteria in the rumen of the newborn lamb. **FEMS Microbiology Letters**, v. 117, p. 249-256, 1994.

MORVAN, B.; RIEU-LESME, F.; FONTY, G.; GOUET, P. In vitro interactions between rumen H<sub>2</sub>-producing cellulolytic microorganisms and H<sub>2</sub>-utilizing acetogenic and sulfate-reducing bacteria. **Anaerobe**, v. 2, p. 175-180, 1996.

MOSS, A. R. **Methane**: global warming and production by animals. Kingston: Chalcombe Publications, 1993. 105 p.

MURRAY, R. M.; BRYANT, A. M.; LENG, R. A. Rates of production of methane in the rumen and large intestines of sheep. **British Journal Nutrition**, v. 36, p. 1-14, 1976.

NAGARAJA, T. G.; NEWBOLD, C. J.; VAN NEVEL, C. J.; DEMEYER D. I. Manipulation of ruminal fermentation. In: Hobson, P. N.; Stewart, C. S. (Ed.). **The rumen microbial ecosystem**. London: Blackie Academic & Professional, 1997. p. 523-632.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of biochemistry**, 3. ed. New York: Worth Publishers, 2000.

NELSON, C. J.; MOSER, L. E. Plant factors affecting forage quality.

In: FAHEY Jr., G. C. (Ed). **Forage quality, evaluation and utilization**.  
Madison: American Society of Agronomy, 1994. p. 115-154.

NEWBOLD, C. J.; RODE L. M. Dietary additives to control methanogenesis in the rumen. In: Soliva, C. R.; Takahashi, J.; Kreuzer, M. (Ed.) **Greenhouse gases and animal agriculture: an update**. Amsterdam: Elsevier, 2006. P. 138-147. Elsevier International Congress Series 1293.

NEWBOLD, C. J.; LASSALAS, B.; JOUANY, J. P. The importance of methanogens associated with ciliate protozoa in ruminal methane production in vitro. **Letters in Applied Microbiology**, v. 21, p. 230-234, 1995.

NISBET, D. J.; MARTINS, S. A. Effect of dicarboxylic acids and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on lactate uptake by ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, p. 3515, 1990.

ODONGO, N. E.; BAGG, R.; VESSIE, G.; DICK, P.; OR-RASHID, M. M.; HOOK, S. E.; GRAY, J. T.; KEBREAB, E.; FRANCE, J.; MCBRIDE, B. W. Long-term effects of feeding monensin on methane production in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 1781–1788, 2007.

O'KELLY, J. C.; SPIERS, W. G. Effect of monensin on methane and heat productions of steers fed lucerne hay either ad libitum or at the rate of 250 g/h. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 43, p. 1789, 1992.

OLIVEIRA, S. G.; BERCHIELLI, T. T.; PEDREIRA, M. S.; PRIMAVESI, O.; FRIGHETTO, R.; LIMA, M. A. Effect of tannin levels in sorghum silage and concentrate supplementation on apparent digestibility and methane emission in beef cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 135, p. 236-248, 2007.

O'MARA, F. Greenhouse gas production from dairying: reducing methane production. **Advances in Dairy Technology**, v. 16, p. 295-309, 2004.

O'MARA, F. P.; FITZGERALD, J. J.; MURPHY, J. J.; RATH, M. The effect on milk production of replacing grass silage with maize silage in the diet of dairy cows. **Livestock Production Science**, v. 55, p. 79-87, 1998.

OZMEN, O. F.; SAHINDURAN, S.; UNSAL, A. Pathological and toxicological investigations of chromic nitrate poisoning in cattle. **Toxicology Environmental Chemistry**, v. 87, p. 99-106, 2005.

OWENS, F. N.; GOETSCH, A. L. Ruminal fermentation. In: Church, D. C. (Ed). **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. Waveland Press, 1988. p.145-171.

PEDREIRA, M. S.; OLIVEIRA, S. G.; BERCHIELLI, T. T.; PRIMAVESI, O. Aspectos relacionados com a emissão de metano de origem ruminal em sistemas de produção de bovinos. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 3, p. 24-32, 2005.

PELCHEN, A.; PETERS, K. J. Methane emission from sheep. **Small Ruminant Research**, v. 27, n. 2, p. 137-150, 1998.

PINARES-PATIÑO, C. S.; ULYATT, M. J.; LASSEY, K. R.; BARRY, T. N.; HOLMES, C. W. Rumen function and digestion parameters associated with differences between sheep in methane emissions when fed chaffed lucerne hay. **Journal Agriculture Science**, v. 140, p. 205-214, 2003.

PRESSMAN, B. C. Lonophorus antibiotics as model for biological transport. **Fedding Process**, v. 27, p. 1283-1288, 1976.

PRIMAVESI, O.; RODRIGUES, A. DE A.; BARBOSA, P. F.; FRIGHETTO, R. T. S.; LIMA, M. A.; PEDREIRA, M. DOS S.; BERCHIELLI, T. T.;

OLIVEIRA, S. G. **Manejo alimentar de bovinos leiteiros e sua relação com produção de metano ruminal**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2004. 21 p. (Embrapa Pecuária Sudeste. Circular Técnica, 39).

REES, E. M. R.; LLOYD, D.; WILLIAMS, A. G. The effects of co-cultivation with the acetogen *Acetitomaculum ruminis* on the fermentation metabolism of the rumen fungi *Neocallimastix patriciarum* and *Neocallimastix* sp. Strai L2. **FEMS Microbiology Letters**, v. 133, p. 175-180, 1995.

ROBERTSON, L. J.; WAGHORN, G. C. Dairy industry perspectives on methane emissions and production from cattle fed pasture or total mixed rations in New Zealand. **Proceedings of the New Zealand Society Animal Production**, v. 62, p. 213–218, 2002.

RODRIGUEZ, N. M.; CAMPOS, W. E. Manipulação ruminal para redução da emissão de metano. In: Simpósio Nacional sobre Produção Animal e Ambiente, 1, 2007, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2007. p. 1-28.

ROUVIERE, P. E.; WOLFE, R. S. Novel biochemistry of methanogenesis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 263, p. 7913-7916, 1988.

RUMPLER, W. V.; JOHNSON, D. E.; BATES, D. B. The effect of high dietary cation concentration on methanogenesis by steers fed diets with and without ionophores. **Journal of Animal Science**, v. 62, p. 1737, 1986.

RUSSEL, J. B.; STROBEL, H. J. Effects of additives on in vitro ruminal fermentation: a comparison of monensin and bacitracin, another gram-positive antibiotic. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 552-558, 1988.

RUSSEL, J. B.; STROBEL, H. J. Minireview. Effect of ionóforos on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 55, n. 1, p. 1-6, 1989.

SARVANAN, T.S. (2000) **Effect of bromochloromethane on methanogenesis, nutrient utilization and growth rate of lambs**. MVSc Thesis, Indian Veterinary Research Institute, Izatnagar, India.

SAUER, F. D.; FELLNER, V.; KINSMAN, R.; KRAMER, J. K. G.; JACKSON, H. A. Methane output and lactation response in Holstein cattle with monensina or unsaturated fat added to the diet. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 906–914, 1998.

SCHOFIELD, P.; PELL, A. N. Measurement and kinetic analysis of the neutral detergent-soluble carbohydrate fraction of legumes and grasses. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 3455-3463, 1995.

SMEDMAN, A.; MÅNSSON-LINDMARK, H.; DREWNOWSKI, A.; EDMAN, A. M. Nutrient density of beverages in relation to climate impact. **Food & Nutrition Research**, v. 54, p. 5170-577, 2010.

SOLIVA, C. R.; MEILE, L.; CIESLAK, A.; KREUZER, M.; MACHMULLER, A. Rumen simulation technique study on the interactions of dietary lauric and myristic acid supplementation in suppressing ruminal methanogenesis. **British Journal of Nutrition**, v. 92, p. 689–700, 2004.

STUMM, C. K.; GIJZEN, H. J.; VOGELS, G. D. Association of methanogenic bacteria with ovine rumen ciliates. **The British Journal of Nutrition**, v. 47, p. 95-99, 1982.

THORPE, A. Enteric fermentation and ruminant eructation: the role (and control?) of methane in the climate change debate. **Climatic change**, v. 93, p. 407-431, 2009.

THORNTON, P. K. Livestock production: recent trends, future prospects. **Philosophical Transactions**, v. 365, p. 2853-2867, 2010.

TIEMANN, T. T.; LASCANO, C. E.; WETTSTEIN, H. R.; MAYER, A. C.; KREUZER, M.; HESS, H. D. Effect of the tropical tannin-rich shrub legumes *Calliandra calothyrsus* and *Flemingia macrophylla* on methane



emission and nitrogen and energy balance in growing lambs. **Animal**, v. 2, p. 790–799, 2008.

TOKURA, M.; USHIDA, K.; MIYAZAKI, K.; KOJIMA, Y. Methanogenesis associated with rumen ciliates. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 22, p. 137-143, 1997.

ULYATT, M. J.; LASSEY, K. R.; SHELTON, I. D.; WALKER, C. F. Methane emission from dairy cows and wether sheep fed subtropical grass-dominant pastures in midsummer in New Zealand. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 45, p. 227–234, 2002.

UNGERFELD, E. M.; KOHN, R. A., 2006. The role of thermodynamics in control of ruminal fermentation. In: Sejrsen, K.; Hvelplund, T.; Nielsen, M. O. (Eds). **Ruminant Physiology Digestion, Metabolism and Impact of Nutrition on Gene Expression, Immunology and stress**. Wageningen Academic Publishers. Wageningen The Netherlands, p. 55-85.

UNGERFELD, E. M.; KOHM. 2006. The role of thermodynamics in the control of ruminal fermentation. Pages 55-85 In: **Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism and Impact of Nutrition on Gene Expression, Immunology and Stress**. Sejrsen, K. Hvelplund, T.; Nielsen, M. O. ed. Wageningen Academic Publishers. Wageningen, the Netherlands.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - USEPA. **Evaluating Ruminant Livestock Efficiency Projects and Programs** In: PEER REVIEW DRAFT. Washington, D.C, 2000, 48p.

USDA. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Foreign Agricultural Service (FAS). Market and Trade Data: trade reports archives. Disponível em: [http://www.fas.usda.gov/livestock\\_arc.asp](http://www.fas.usda.gov/livestock_arc.asp). Acesso em: 18 fev. 2010.

VAN DER HONING, Y.; TAMMINGA, S.; WIEMAN, B. J.; STEG, A.; VAN DONSELAAR; B.; VAN GILS, L. G. M. Further studies on the effect of fat supplementation of concentrates fed to lactating cows.

2. Total digestion and energy utilization. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, v. 31, p. 27–36, 1983.

VAN KESSEL, J. A. S.; RUSSEL, J. B. The effect of pH on ruminal methanogenesis. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 20, p. 205-210, 1996.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca, New York: Cornell University Press, 1994. 476 p.

VAN VUGT, S. J.; WAGHORN, G. C.; CLARK, D. A.; WOODWARD, S. L. Impact of monensin on methane production and performance of cows fed forage diets. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, v. 65, p. 362–366, 2005.

VAN ZIJDERVELD, S. M.; GERRITS, W. J. J.; APAJALAHTI, J. A. et al. Nitrate and sulfate: Effective alternative hydrogen sinks for mitigation of ruminal methane production in sheep. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 5856-5866, 2010.

WALLACE, J. Ruminal microbiology, biotechnology and ruminant nutrition: progress and problems. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 2992, 1994.

WALLACE, R. J.; CZERKAWSKI, J. W.; BRECKENRIDGE, G. Effect of monensin on the fermentation of basal rations in the simulation technique (Rusitec). **British Journal of Nutrition**, v. 114, p. 101, 2002.

WALLACE R. J.; WOOD, T. A.; ROWE, A.; PRICE, J.; YANEZ, D. R.; WILLIAMS, S. P.; NEWBOLD, C. J. (2006) Encapsulated fumaric acid as a means of decreasing ruminal methane emissions. **International Congress Series** 1293, p. 148–151. doi: 10.1016/j.ics.2006.02.018

WAGHORN G. C. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production: progress and challenges. **Animal Feed Science and Technology**, v. 147, p. 116–139, 2007.

WATANABE, Y.; SUZUKI, R.; KOIKE, K. et al. In vitro evaluation of cashew nut shell liquid as a methane-inhibiting and propionate-enhancing agent of ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 5258-5267, 2010.

WEIMER, P. J. Manipulating ruminal fermentation: a microbial ecological perspective. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 3114–3122, 1998.

WESTERHOFF, H. V.; VAN DAM, K. **Thermodynamics and Control of Biological Free-energy Transduction**. Amsterdam: Elsevier, 1987.

WILLIAMS, A. G.; COLEMAN, G. S. **The rumen protozoa**. New York: Springer-Verlag, 1992.

WIMS, C. M.; DEIGHTON, M. H. LEWIS, E. Effect of pregrazing herbage mass on methane production, dry matter intake and milk production of grazing dairy cows during the mid-season period. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 4976-4985, 2010.

WOLIN, M. J.; MILLER, T. L.; STEWART, C.S. Microbe-microbe interactions. In: HOBSON, P. N.; STEWART, C. S. **The rumen microbial ecosystem**. London: Blackie Academic & Professional, 1997. p. 467-491.

WOLIN, M. J.; MILLER, T. L. Microbe-microbe interactions. In: Hobson, P.N. (Ed.) **The rumen microbial ecosystem**. New York: Elsevier, 1988. p. 343-359.

WOLIN, M. J. The rumen fermentation: a model for microbial interactions in anaerobic ecosystems. **Advance Microbiology Ecology**, v. 3, p. 49-77, 1979.

WOLIN, M. J. 1976. Interactions between H<sub>2</sub>-producing and methane-producing species. In: Schlegel, H. G.; Gottschalk, G.; Pfenning, N. (Eds.). **Microbial Production and utilization of gases (H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, CO)**. E. Gotze, K. G., Gottingen, Germany, p. 141-150.

WOODWARD, S. L. et al. Early indications that feeding *Lotus* will reduce methane emissions from ruminants. In: **Proceeding of New Zealand Society of Animal Production**, 61:23, 2001

WOODWARD, S. L.; WAGHORN, G. C.; THOMSON, N. A. Supplementing dairy cows with oils to improve performance and reduce methane – does it work? **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, v. 66, p. 176–181, 2006.

WUEBBLES, D. J.; HAYHOE, K. Atmospheric methane and global change. **Earth-Science Review**, v. 57, p. 177–210, 2001.

YAN, T.; MAYNE, C. S.; GORDON, F. G. Mitigation of enteric methane emissions through improving efficiency of energy utilization and productivity in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 2630-2638,