



Interação microbiana e metanogênese em ruminantes – uma revisão [*Microbial interaction and methanogenesis in ruminants - a review*]

“Revisão/Review”

Fernando dos Santos **Magaço**¹, Eduardo Robson **Duarte**^{2*}

¹Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), Universidade Zambeze (UZ), Tete, Moçambique.

²Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, Brasil.

*Autor para correspondência/Corresponding author: E-mail: duartevet@hotmail.com

Resumo

A produção animal contribui de forma significativa na emissão de gases de efeito estufa de origem antropogênica. A fermentação entérica e ruminal produz metano que representa o gás de maior relevância nesse efeito. Nesta revisão objetivou-se analisar os efeitos das práticas utilizadas para mitigação da emissão do metano (CH₄) na interação microbiológica do rúmen. O CH₄ entérico emitido pelos ruminantes resulta da atividade da população de archaeas metanogênicas que desenvolveram relação evolutiva complexa com a comunidade de protozoários ciliados, bactérias e fungos anaeróbicos. Esses microrganismos produzem substratos que são utilizados pelas metanogênicas no metabolismo energético, gerando CH₄. Em termos produtivos, representa baixa eficiência na utilização da energia do alimento ingerido, porém, metabolicamente é um processo favorável para o ecossistema ruminal. A manipulação do ambiente ruminal com vista a reduzir a emissão de metano e melhorar a eficiência energética, tem se baseado na melhora da qualidade das pastagens, manejo nutricional e alimentar, seleção e melhoramento genético. Ademais, a utilização dessas práticas resultam em modificações na estrutura microbiana e nos mecanismos fermentativos a curto prazo. Contudo, estudos são recomendados para avaliar os efeitos das diversas técnicas à longo prazo no ambiente ruminal.

Palavras-chave: archaea; metano; microbiota autoctone; rúmen.

Abstract

Animal production contributes significantly to the greenhouse gases emission of anthropogenic origin. Enteric and ruminal fermentation produce methane that represents the more important of these gases. This review aimed to analyze the effects of the practices to mitigate methane (CH₄) emission in the rumen microbiological interaction. The enteric CH₄ emitted by ruminants results from the activity of the population of methanogenic Archaea which developed a complex evolutionary relationship with protozoa, bacteria, and anaerobic fungi. These microorganisms produce substrates that are used by methanogenic in energy metabolism, generating methane (CH₄). In productive terms, it represents a low energetic efficiency, however, CH₄ production is a favorable metabolic process for the ruminal ecosystem. The manipulation of the rumen environment in order to reduce CH₄ emissions and improve the energy efficiency has been based on improved pasture quality, nutritional and food management, animal selection and breeding. In addition, the use of these practices results in shifts in the microbial structure and in the short-term fermentation mechanisms. However, studies in the long-term are recommended evaluating the effects of these techniques on the ruminal environment.

Keywords: Archaea; methane; autochthone microbiota; rumen.

Introdução

A produção animal é considerada um dos principais contribuintes na emissão de gases de efeito estufa de origem antropogênica (Malik et al., 2016), podendo variar com tipo de sistema de produção (Hagemann et al., 2011). A fermentação entérica e o manejo de dejetos dos animais

representam um total de 80% do metano (CH₄) emitido pela atividade agropecuária e, 35% a 40% do total de metano antropogênico emitido. Pela prospecção no aumento do número de animais de produção, resultado do aumento da demanda por produtos de origem animal, espera-se aumento na

produção e emissão desse gás (Forabosco et al., 2017).

A fermentação entérica, realizada pelos microrganismos presentes no rúmen e intestinos dos animais, contribui de forma significativa na emissão de gases do efeito estufa (Denman et al., 2015). O metano produzido no rúmen é resultado da atividade da população de archaeas metanogênicas que convertem hidrogênio e gás carbônico (H_2 e CO_2) produzido pela complexa comunidade de ciliados, bactérias e fungos anaeróbicos a metano (Wallace et al., 2014). Em termos produtivos, representa baixa utilização da energia do alimento ingerido e redução da eficiência alimentar e produtividade do animal (Cota et al., 2014).

Consequentemente têm sido objeto de estudo o aprimoramento da utilização da energia dos alimentos no rúmen, melhorando a eficiência do animal e redução na emissão entérica do metano beneficiando o meio ambiente (Wallace et al., 2014; Martin et al., 2016; Al-Jumail et al., 2017).

Dada a heterogeneidade, complexidade da produção animal e dos métodos de quantificação da produção do metano em ruminantes, a produção desse gás varia em diferentes regiões geográficas e espécie de animais (Henderson et al., 2015; Mottet et al., 2017) que pode não representar a quantidade real emitida (Knapp et al., 2014; Pickering et al., 2015). Em regiões subdesenvolvidas, a produção animal representada por rebanhos com baixa produtividade, baixa qualidade dos alimentos e limitados investimentos, resulta na alta taxa de emissão do metano (Forabosco et al., 2017).

Distintas estratégias de manipulação do ambiente ruminal, com vista à redução da emissão do metano entérico, foram testadas em diferentes condições e baseadas na integração da genética, manejo nutricional e alimentar, fisiologia e saúde (Pickering et al., 2015; Nguyen, Li e Hegarty, 2016; Rira et al., 2016).

A aplicabilidade e aprimoramento dessas técnicas depende das condições de cada região, considerando a variação no nível de emissão do gás, os custos para a quantificação e aplicabilidade (Mottet et al., 2017) e modificações à curto prazo na estrutura microbiana do rúmen (Tapio et al., 2017). Pesquisas são necessárias para avaliar os efeitos à longo prazo das estratégias na integração microbiana sobre a fermentação ruminal (Wallace et al., 2014; Joch et al., 2016).

Os efeitos das práticas utilizadas para redução de metano decorrente da produção animal

promovem alterações estruturais no ecossistema ruminal ainda pouco elucidadas na literatura científica. Para tal, objetivou-se nesta revisão analisar os efeitos dessas práticas de mitigação na interação microbiana no ecossistema ruminal, conduzindo dessa forma, na indicação de medidas sustentáveis e aplicáveis para as distintas regiões e sistemas de produção.

Integração do metabolismo microbiano e metanogênese em ruminantes

Os ruminantes caracterizam-se por apresentar sistema digestório especializado no processo de fermentação, sendo capazes de digerir diferentes tipos de forragens, graças a interação evolutiva que desenvolveram com os microrganismos, sendo essa interação benéfica para o hospedeiro e para a microbiota (Li et al., 2016).

Essas características permitiram a adaptação dos ruminantes e ocupação de diferentes ecossistemas, contribuindo para a domesticação desses animais capazes de converter plantas indigestíveis pelo homem em alimentos nobres como a carne e o leite (Henderson et al., 2015). A população microbiana do rúmen é composta por bactérias anaeróbicas, archaeas, fungos anaeróbicos e protozoários ciliados (Tapio et al., 2017). A colonização microbiana do rúmen inicia nas primeiras semanas após o nascimento e é influenciada pelas mudanças da dieta e pelo ambiente de criação. O metabolismo microbiano no trato digestório contribui para o desenvolvimento ruminal, resultando no início da atividade fermentativa de forragens (Grandl et al., 2016).

Os alimentos ingeridos são fermentados pela atividade das enzimas microbianas na cavidade retículo-rúmen, em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) que são absorvidos pela parede do rúmen. Os AGCC representam fonte de energia e contribuem de forma significativa na produtividade dos ruminantes. Os outros produtos da fermentação como H_2 , CO_2 , acetato, grupos metila são utilizados por arqueobactérias para a produção de ATP, reduzindo o CO_2 a metano (Botero et al., 2013; Henderson et al., 2015).

O anabolismo do metano no ecossistema ruminal representa perda de energia potencialmente utilizável (Cota et al., 2014). Entretanto, metabolicamente, a baixa concentração do H_2 dissolvido é importante na fermentação ruminal, pois caso não seja removido pelas

metanogênicas, ocorrerá redução no processo fermentativo, na taxa de crescimento de microrganismos celulolíticos e na síntese de proteína microbiana (Botero et al., 2013). O metano produzido é liberado pelos ruminantes por eructação para o ambiente, sendo considerado a principal fonte de gases do efeito estufa na produção pecuária. O direcionamento da produção de H₂ no rúmen para os mecanismos alternativos de produção de energia podem aprimorar a eficiência na utilização de alimentos em ruminantes (Denman et al., 2015).

A taxa de produção de metano pode ser influenciada pelo ambiente e pelas características do alimento. A fermentação de alimentos ricos em amido reduz a taxa de emissão de metano, enquanto que a ingestão de forragens de baixa qualidade resulta em baixa digestibilidade e maior emissão desse gás (Cota et al., 2014; Rira et al., 2016).

Pela análise baseada dos genes 16S do RNAr e abundância de genes de archaeas, as bactérias envolvidas direta ou indiretamente na metanogênese foram correlacionados com a alta emissão de metano (Wallace et al., 2015). A microbiota importante na produção de metano entérico é representada por Methanobacteriales (*Methanobrevibacter gottschalkii* e *Methanobrevibacter ruminantium*) a *Methanosphaera* sp. e dois grupos afiliados de *Methanomassiliococcaceae* (Henderson et al., 2015). Esse grupo das Methanobacteriales, apresentam gene que expressa a coenzima metil redutase, importante na produção do metano entérico (Denman et al., 2015). Pela análise da abundância de genes 18S e 16S do RNAr pelo qPCR observou-se maior abundância de gênero *Methanobrevibacter* em animais que produziam mais metano (Wallace et al., 2015) e em condições de acidose subaguda (Mickdam et al., 2016).

Na avaliação da microbiota de 32 espécies de ruminantes de distintas (35) regiões do mundo foi registrada limitada diversidade de arqueobactérias (Henderson et al., 2015). Constatou-se menor ocorrência de archaeas capazes de formar metano a partir do acetato (*Methanosarcina* spp. e *Methanosaeta* spp.), bem como metanogênicas da Ordem Thermoplasmatales que utilizam o grupo metil. Esses achados são importantes para apontar a possibilidade de definir práticas efetivas de mitigação da emissão do metano no ecossistema ruminal (Henderson et al., 2015).

As archaeas metanogênicas desenvolveram relação simbiótica com microrganismos do rúmen mais eficientes na produção de H₂, fazendo com que alberguem ao seu redor muitas bactérias metanogênicas (Tapio et al., 2017; Wallace et al., 2017). Entretanto, observa-se que em muitos estudos apenas é avaliada a abundância de determinado grupo de microrganismos sob distintas condições, sem precisar quantificar a sua importância no ambiente ruminal (Wallace et al., 2017).

No rúmen, a colonização dos protozoários pelas arqueobactérias metanogênicas tem sido associada ao aumento na produção do metano. Entretanto, na pesquisa conduzida por Henderson et al., (2015) não foi observada correlação entre arqueobactérias e protozoários ruminais para a produção de metano. Contudo, no estudo promovido por Wallace et al. (2014) pela análise de qPCR, verificou-se que o aumento na emissão do metano resultou no aumento da população de protozoários.

Em animais refaunados com protozoários, foi verificada correlação positiva entre a produção de metano e a população de protozoários, com maior predominância do grupo dos pequenos entodimorfos (Nguyen, Li e Hegarty, 2016). Os mesmos autores demonstraram a importância dos protozoários na regulação do pH ruminal mesmo com elevação da produção de metano. Todavia, foi constatado por Mickdam et al. (2016), em pH abaixo de 5,9 a elevação da concentração de *Entodinium* spp. e redução da atividade fibrolítica. Como alternativa para redução desse gênero de ciliado, a inclusão de níveis crescentes de feno de folha de bananeira na dieta de cordeiros promoveu a redução significativa desses protozoários, sem alterações no pH ruminal (Freitas et al., 2017).

Correlação positiva e significativa foi observada entre a população de protozoários ($r=0,53$; $p<0,05$) e bactérias *Ruminococcus albus* ($r=0,5$; $P<0,05$) e a produção de metano. Entretanto, nenhuma correlação significativa foi observada entre o total de *Ruminococcus flavefaciens*, *Fibrobacter succinogenes* e a produção de metano (Rira et al., 2016).

A diminuição de grupos de bactérias celulolíticas pode resultar de quadros de acidose nos animais, pois, observou-se em animais com pH ruminal abaixo de 6,0 redução na produção de metano, pela redução de H₂ disponível para as metanobactérias. Entretanto, concomitantemente, constatou-se diminuição das importantes bactérias

celulolíticas *F. succinogenes* e *R. albus* (Mickdam et al., 2016).

Baixa produção de metano é acompanhada da elevação da população de Succinovibrionacea e mudanças nos mecanismos de produção de acetato e hidrogênio (Wallace et al., 2015). Por outro lado, a redução de Proteobactérias, alterações em grupos de Bacteroides e fungos anaeróbios tendem a associar com alta emissão de metano. Alterações observadas na microbiota ruminal para redução da produção de metano demonstram alterações nos mecanismos de fermentação e, como consequência causam modificações na produção de AGCC e na composição dos microrganismos ruminais (Tapio et al., 2017).

A taxa de utilização de H₂ para síntese de AGCC varia de acordo com a microbiota existente no ambiente ruminal (Nguyen, Li e Hegarty, 2016) para tal, se justifica a realização de estudos para avaliar a integração microbiológica na fermentação ruminal e produção de metano em longo prazo (Wallace et al., 2014; Malmuthug e Guan, 2017). Entretanto, a complexidade e a dinâmica dos mecanismos de produção e liberação de AGCC,

metabolismo de nitrogênio e taxa de crescimento microbiano contribuem na dificuldade para estimar a emissão do metano e desenvolvimento de estratégias para mitigação (Knapp et al., 2014).

Relação microbiana e redução do metano em ruminantes

Intervenções têm sido conduzidas para aprimorar a eficiência de aproveitamento da energia perdida na forma de metano no rúmen, concomitantemente com a melhora do desempenho produtivo dos animais. Práticas sustentáveis e aplicáveis em distintos sistemas de produção animal baseiam-se na melhora da qualidade dos alimentos ofertados, do manejo nutricional e na seleção e melhoramento genético dos animais (Crosson et al., 2010; Mottet et al., 2017; Mizrahi e Jami, 2018). Todavia, observa-se que em muitos estudos, as avaliações das práticas de mitigação de metano sob diferentes condições são avaliadas isoladamente e para um ou poucos grupos microbianos e não consideram o ecossistema ruminal como um sistema complexo e dinâmico (Tabela 1).

Tabela 1. Estratégias de mitigação de metano e alterações metabólicas no organismo dos ruminantes

Estratégia	Alterações metabólicas	Autor
Aumento da produtividade dos animais	Baixa produção de CH ₄ /kg de leite ou carne produzido	Pickering et al. (2016) Roehe et al. (2016)
Melhora na qualidade e utilização dos alimentos	Aumento na produção de propionato e redução na produção de H ₂	Rira et al. (2016) Homem-Junior et al. (2017)
Aumento de concentrados na dieta	Aumento na produção de propionato e utilização de H ₂ em outras rotas metabólicas	Cota et al. (2014) Wallace et al. (2014)
Aumento de fibra na dieta	Baixa a expressão de genes envolvidos na metanogênese	Nathani et al. (2015)
Defaunação	Redução da população de protozoários no rúmen e redução da concentração de H ₂	Martin et al. (2016) Nguyen; Li e Hegarty (2016)
Extratos de plantas	Redução da população de protozoários no rúmen, redução da concentração de H ₂ e aumento na produção de propionato	Li et al. (2016) Piñeiro Vázquez et al. (2015)

Fonte: Adaptado pelos autores

Fisiologicamente as arqueobactérias metanogênicas apresentam diferenças nas vias metabólicas. O maior grupo desses microrganismos é hidrogenotrópicos, enquanto que os outros são capazes de crescer com hidrogênio retirado do grupo metil derivado do metanol ou metilaminas (Henderson et al., 2015).

Por tanto, muitos estudos *in vivo* ou *in vitro* para avaliar diferentes formas para a redução da emissão do metano são direcionados as metanogênicas hidrogenotrópicas. Em uma meta-análise, Ungerfeld (2015) aponta que a manipulação da rota metabólica de produção de hidrogênio no rúmen para a síntese de metano pode

aprimorar a eficiência na produção de ruminantes e minimizar os efeitos ambientais.

A utilização de extratos vegetais como alternativa na manipulação ruminal, favorecendo da utilização de energia em ruminantes, tem sido reportado na literatura científica. A adição desses extratos pode ter efeitos deletérios na microbiota ruminal produtora de H₂, alterando o processo de fermentação ruminal e favorecendo a produção de propionato, que irá aprimorar a eficiência no uso da energia dos alimentos (Piñeiro Vázquez et al., 2015; Li et al., 2016).

O ácido tânico, presente em muito desses extratos, promoveu redução no metano produzido

24 horas após a incubação à medida que a concentração do tanino aumentava ($p=0,0003$) sem nenhuma influência na produção de AGCC (Al-Jumaili et al., 2017).

A adição de quantidades crescentes de sementes de linhaça na dieta reduziu a produção de metano em até 38% em animais suplementados com 15% da semente extrusada e alimentados com feno. Esse tratamento reduziu a população de archeas metanogênicas e a concentração de protozoários, o que resultou em menor disponibilidade de H_2 no rúmen (Martin et al., 2016). A utilização de sementes de linhaça extrusada pode alterar a fermentação ruminal favorecendo a produção de propionato (Martin et al., 2016), esse fenômeno estaria relacionado com aumento da população de bactérias amilolíticas que fermentam o amido da dieta produzindo propionato e reduzindo a concentração de H_2 para as arqueobactérias metanogênicas (Wallace et al., 2014; Metzler-Zebeli et al., 2015).

Os benefícios do uso de inibidores da metanoqênese dependem da composição e concentrações desses aditivos, pois podem ser tóxicos para a microbiota do rúmen (Al-Jumail et al., 2017). Adicionalmente, o uso desses produtos deve ser avaliado em maiores períodos, de modo a quantificar sua ação na complexa população microbiana do rúmen (Joch et al., 2016) ou direcionar os produtos para um alvo específico como a coenzima metil redutase sintetizada por *Methanobrevibacter ruminantium* (Hristov et al., 2015).

O manejo alimentar pode ser estratégia importante para a mitigação do metano produzido pelos ruminantes e apontar sistemas mais produtivos e economicamente sustentáveis. Essa alternativa poderá ser vantajosa quando os animais recebem dietas de boa qualidade, melhorando o consumo dos alimentos e digestibilidade dos nutrientes (Rira et al., 2016; Homem-Junior et al., 2017).

Modificações na dieta causam alterações na microbiota ruminal e como consequência alterações nos mecanismos e produtos da fermentação. Em animais alimentados com dietas ricas em fibras, verificou-se maior produção de metano em g/kg de matéria seca ingerida em relação ao grupo alimentado com dieta com menor teor de fibra (Wallace et al., 2014). Todavia, pela análise do DNA da microbiota ruminal de búfalos da raça Jaffrabadi, o aumento crescente dos teores de fibra na dieta (50%, 75%, 100%) reduziu a

atividade de genes de bactérias envolvidas na produção de metano no rúmen (Nathani et al., 2015).

Compreender a ecologia do rúmen como um sistema único poderá auxiliar ultrapassar os desafios de otimização dos sistemas de produção animal, mediante a integração do aumento da produtividade e a mitigação de metano no ambiente. Essas relações são frequentemente influenciadas pelos sistemas de produção dos ruminantes (Mizrahi e Jami, 2018).

Em sistemas de produção de leite diferentes modelos produtivos são avaliados a fim de definir melhores estratégias para mitigação de metano (Hagemann et al., 2011). Sistemas produtivos com melhores rentabilidade tem promovido a criação em pastos rotacionados promovendo melhoria da eficiência do rebanho e do animal e melhor manejo de utilização das pastagens (Beukes et al., 2010). Contudo, nesses sistemas ainda são registrados altos níveis de emissão em relação aos sistemas de produção de leite em confinamento (Du Toit et al., 2013; Knapp et al., 2014).

Em sistemas de produção de bovinos de corte, altos níveis de emissão de metano são apontados em países em desenvolvimento (Du Toit et al., 2013; Caro et al., 2014; Patra, 2014). Nessas regiões, o total de emissão de metano por esses animais quase duplicou nas últimas quatro décadas, porém, houve redução na emissão quando avaliada por tonelada de carne produzida, que poderia ser atribuída ao melhoramento genético e utilização eficiente das pastagens (Caro et al., 2014).

Adicionalmente, constata-se que na pecuária de corte, a baixa eficiência reprodutiva aliada a baixa qualidade dos nutrientes podem aumentar a emissão do metano por unidade do produto. Esses dados indicam que o manejo reprodutivo eficiente e melhor manejo nutricional, mesmo em sistemas de pastagens, pode contribuir com a mitigação desse gás na pecuária (Meissner et al., 2013).

Em fazendas brasileiras de bovinos de corte, o metano proveniente da fermentação entérica foi o mais abundante (75%), quando avaliado o ciclo completo de produção da carne (Ceri et al., 2016). Todavia, foi observada redução na produção de metano/kg de matéria seca ingerida em animais mantidos em confinamento e alimentados com silagem de milho em comparação com aqueles mantidos em pastagem de *Urochloa brizantha* cv. Marandu (Cota et al., 2014).

Estudos promovidos por Pickering et al. (2015) apontam a herdabilidade substancial em

vacas leiteiras na predisposição para produção de metano, encorajando desse modo estudos de seleção genômica. Dessa forma, o melhoramento genético animal e o avanço das técnicas de biologia molecular representam a chave para redução da produção de metano, Hayes, Lewin e Goddard (2013). Essas tecnologias aprimorariam a eficiência de utilização de alimentos, a taxa de crescimento, a fertilidade dos animais e a melhor avaliação da abundância relativa de genes microbianos no rúmen (Roehle et al., 2016). Adicionalmente, análises de metaproteoma e a metatranscriptoma podem prover melhores informações sobre o genoma dos animais e do metagenoma ruminal e suas respectivas atividades, permitindo melhor avaliação da interação entre a microbiota do rúmen e o animal (Wallace et al., 2017).

Considerações finais

A produção de metano pelos ruminantes é resultado de uma interação evolutiva complexa favorável para manutenção das condições fisiológicas do ecossistema ruminal, em especial para a estabilidade do pH. O envolvimento das populações de protozoários na taxa de produção de metano ruminal deve ser melhor elucidado, considerando a diversidade genética desses ciliados, bem como os sistemas de criação e de alimentação fornecidos aos ruminantes hospedeiros. Os métodos direcionados à manipulação do ambiente ruminal para redução de emissão do metano podem alterar em curto prazo a estrutura microbiana em diferentes níveis. Dessa forma, estudos associativos são necessários para avaliar as consequências das alterações do ambiente ruminal e adaptação da microbiota ruminal à longo prazo, considerando o animal, rebanho, sistema e nível de produção em diferentes regiões produtoras de ruminantes, contribuindo para produção sustentável.

Referências

- Al-Jumaili, W.S.; Goh, Y.M.; Jafari, S.; Rajion, M.A.; Jahromi, M.F.; Ebrahimi, M. An *in vitro* study on the ability of tannic acid to inhibit methanogenesis and biohydrogenation of C18 PUFA in the rumen of goats. **Annals of Animal Science**, 17(2): 491-502, 2017.
- Botero, I.C.M.; Cantet, J.M.; Montoya, S.; Londoño, G.A.C.; Rosales, R.B. Producción de metano in vitro de dos gramíneas tropicales solas y mezcladas con *Leucaena leucocephala* o *Gliricidia sepium*. **Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, 8(2): 15-31, 2013.
- Beukes, P.C.; Gregorini, P.; Romera, A.J.; Levy, G.; Waghorn, G.C. Improving production efficiency as a strategy to mitigate greenhouse gas emissions on pastoral dairy farms in New Zealand. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, 136: 358-365, 2010.
- Caro, D.; Davis, S.J.; Bastianoni, S.; Caldeira, K. Global and regional trends in greenhouse gas emissions from livestock. **Climatic Change**, 126: 203-216, 2014.
- Cerri, C.C.; Moreira, C.S.; Alves, P.A.; Raucci, G.S.; Castigioni, B.D.A.; Mello, F.F.C.; Cerri, D.G.P.; Cerri, C.E.P. Assessing the carbon footprint of beef cattle in Brazil: A case study with 22 farms in the State of Mato Grosso. **Journal of Cleaner Production**, 112: 2593-2600, 2016.
- Cota, O.L.; Maria de Figueredo, D.; Branco, R. H.; Magnani, E.; Ferreira do Nascimento, C.; Freitas de Oliveira, L.; Mercadante, M.E.Z. Methane emission by Nelore cattle subjected to diferente nutritional plans. **Tropical Animal Health Production**, 46(1): 1229-1234, 2014.
- Denman, S.E.; Fernandez, G.M.; Shinkai, T.; Mitsumori, M.; McSweeney, C.S. Metagenomic analysis of the rumen microbial community following inhibition of methane formation by a halogenated methane analog. **Frontiers in Microbiology**, 16(1087): 1-12, 2015.
- Du Toit, C.J.L.; Meissner, H.H.; Van Niekerk, W.A. Direct methane and nitrous oxide emissions of South African dairy and beef cattle. **South African Journal of Animal Science**, 43: 320-339, 2013.
- Forabosco, F.; Chitchyan, Z.H.; Mantovani, R. Methane, nitrous oxide emissions and mitigation strategies for livestock in developing countries: A review. **South African Journal of Animal Science**, 47(3): 269-280, 2017.
- Freitas, C.E.S.; Duarte, E.R.; Alves, D.D.; Martinele, I.; D'Agosto, M.; Cedrola, F.; Freitas, A.A.M.; Soares, F.D.S.; Beltran, M. Sheep fed with banana leaf hay reduce rumina protozoa population. **Tropical Animal Health Production**, 49(4): 807-812, 2017.
- Grandl, F.; Amelchanka, S.L.; Furger, M.; Clauss, M.; Zeitz, J.O.; Kreuzer, M.; Schwarm, A. Biological implications of longevity in dairy

- cows: 2. Changes in methane emissions and efficiency with age. **Journal of Dairy Science**, 99(5): 3472-3485, 2016.
- Hagemann, M.; Hemme, T.; Ndambi, A.; Alqaisi, O.; Sultana, M.N. Benchmarking of greenhouse gas emissions of bovine milk production systems for 38 countries. **Animal Feed Science and Technology**, 166-167: 46-58, 2011.
- Hayes, B.J.; Lewin, H.A.; Goddard, M.E. The future of livestock breeding: genomic selection for efficiency, reduced emissions intensity, and adaptation. **Trends in Genetics**, 29(4): 206-214, 2013.
- Henderson, G.; Cox, F.; Ganesh, S.; Jonker, A.; Young, W.; Janssen, P.H. Rumen microbial community composition varies with diet and host, but a core microbiome is found across a wide geographical range. **Scientific Reports**, 15(14567): 1-15, 2015.
- Homem-Junior, A.C.; Ezequiel, J.M.B.; Fávaro, V.R.; Almeida, M.T.C.; Paschoaloto, J.R.; D'Áurea, A.P.; Barbosa de Carvalho, V.; Nocera, B.F.; Cremasco, L.F. Methane production by *in vitro* ruminal fermentation of feed ingredients. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, 38(2): 877-884, 2017.
- Hristov, A.N.; Oh, J.; Giallongo, F.; Frederick, T.W.; Harper, M.T.; Weeks, H.L.; Branco, A.F.; Moate, P.J.; Deighton, M.H.; Williams, S.R.O.; Kindermann, M.; Duval, S. An inhibitor persistently decreased enteric methane emission from dairy cows with no negative effect on milk production. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 112(34): 10663-10668, 2015.
- Joch, M.; Cermak, L.; Hakl, J.; Hucko, B.; Duskova, D.; Marounek, M. *In vitro* screening of essential oil active compounds for manipulation of rumen fermentation and methane mitigation. **Asian Australasian Journal of Animal Science**, 29(7): 952-959, 2016.
- Knapp, J.R.; Laur, G.L.; Vadas, P.A.; Weiss, W.P.; Tricarico, J.M. *Invited review*: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. **Journal of Dairy Science**, 97: 3231-3261, 2014.
- Li, D.; Zhang, Y.; Cui, Z.; He, L.; Chen, W.; Meng, Q.; Ren, L. Effects of Phytoecdysteroids (PEDS) extracted from *Cyanotis arachnoidea* on rumen fermentation, enzyme activity and microbial efficiency in a continuous-culture System. **PloS ONE**, 11(4): 1-12, 2016.
- Malik, P. K.; Bhatta, R.; Takahashi, J.; Kohn, R. A.; Prasad, C. S. Livestock Production and Climate Change. **Animal Feed Science and Technology**, 217: 101-103, 2016.
- Malmuthuge, N.; Guan, L.L. Understanding host-microbial interactions in rumen: searching the best opportunity for microbiota manipulation. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, 8(8): 1-8, 2017.
- Martin, C.; Ferlay, A.; Mosoni, P.; Rochette, Y.; Chilliard, Y.; Doreau, M. Increasing linseed supply in dairy cow diets based on hay or corn silage: Effect on enteric methane emission, rumen microbial fermentation, and digestion. **Journal of Dairy Science**, 99(5): 3445-3456, 2016.
- Meissner, H.H.; Scholtz, M.M.; Palmer, A.R. Sustainability of the South African livestock sector towards 2050 Part 1: Worth and impact of the sector. **South African Journal of Animal Science**, 43: 282-297, 2013.
- Metzler-Zebeli, B.U.; Khol-Parisini, A.; Gruber, L.; Zebeli, Q. Microbial populations and fermentation profiles in rumen liquid and solids of Holstein cows respond differently to dietary barley processing. **Journal of Applied Microbiology**, 119: 1502-1514, 2015.
- Mickdam, E.; Khiaosa-ard, R.; Metzler-Zebeli, B.U.; Klevenhusen, F.; Chizzola, R.; Zebeli, Q. Rumen microbial abundance and fermentation profile during severe subacute ruminal acidosis and its modulation by plant derived alkaloids *in vitro*. **Anaerobe**, 39: 4-13, 2016.
- Mizrah, I.; Jami, E. Review: The compositional variation of the rumen microbiome and its effect on host performance and methane emission. **Animal**, 1-13, 2018.
- Mottet, A.; Henderson, B.; Opio, C.; Falcucci, A.; Tempio, G.; Silvestri, S.; Chesterman, S.; Gerber, P.J. Climate change mitigation and productivity gains in livestock supply chains: insights from regional case studies. **Regional Environmental Change**, 17: 129-141, 2017.
- Nathani, N.M.; Patel, A.K.; Mootapally, C.S.; Reddy, B.; Shan, S.V.; Lunagarra, P.M.; Kothari, R.K.; Joshi, C.G. Effect of roughage on rumen microbiota composition in the efficient feed convert and sturdy Indian Jaffrabadi buffalo (*Bubalus bubalis*). **BMC Genomics**, 16(1116): 1-15, 2015.

- Nguyen, S.H.; Li, L.; Hegarty R.S. Effects of rumen protozoa of Brahman heifers and nitrate on fermentation and *in vitro* methane production. **Asian Australasian Journal of Animal Science**, 29(6): 807-813, 2016.
- Patra, A.K. Trends and projected estimates of GHG emissions from Indian livestock in comparisons with GHG emissions from world and developing countries. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, 27: 592-599, 2014.
- Pickering, N.K.; Chagunda, M.G.G.; Banos, G.; Mrode, R.; McEwan, J.C.; Wall, E. Genetic parameters for predicted methane production and laser methane detector measurements. **Journal of Animal Science**, 93: 11-20, 2015.
- Piñeiro Vázquez, A.T.; Canul-Solís, J.R.; Alayón-Gamboa, J.A.; Chay-Canul, A.J.; Ayala-Burgos, A.J.; Aguilar-Pérez, C-F.; Solorio-Sánchez, F.J.; Ku-Vera, J.C. Potential of condensed tannins for the reduction of emissions of enteric methane and their effect on ruminant productivity. **Archivos de Medicina Veterinaria**, 47: 263-272, 2015.
- Rira, M.; Morgavi, D.P.; Popova, M.; Marie-Magdeleine, C.; Silou-Etienne, T.; Archimède, H.; Doreau, M. Ruminal methanogens and bacteria populations in sheep are modified by a tropical environment. **Animal Feed Science and Technology**, 220: 226-236, 2016.
- Roehe, R.; Dewhurst, R.J.; Duthie, C.A.; Rooke, J.A.; McKain, N.; Ross, D.W.; Hyslop, J.J.; Waterhouse, A.; Freeman, T.C.; Watson, M.; Wallace, R.J. Bovine host genetic variation influences rumen microbial methane production with best selection criterion for low methane emitting and efficiently feed converting hosts based on metagenomic gene abundance. **PLoS Genetics**, 12(2): 1-20, 2016.
- Tapio, I.; Snelling, T.J.; Strozzi, F.; Wallace, R.J. The ruminal microbiome associated with methane emissions from ruminant livestock. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, 8(7): 1-11, 2017.
- Ungerfeld, E.M. Shifts in metabolic hydrogen sinks in the methanogenesis-inhibited ruminal fermentation: a meta-analysis. **Frontiers in Microbiology**, 6(37): 1-17, 2015.
- Wallace, R.J.; Rooke, J.A.; Duthie, C.A.; Hyslop, J.J.; Ross, D.W.; McKain, N.; Motta de Souza, S.; Snelling, T.J.; Waterhouse, A.; Roehe, R. Archaeal abundance in *post-mortem* ruminal digesta may help predict methane emissions from beer cattle. **Scientific Reports**, 4(5892): 1-8, 2014.
- Wallace, R.J.; Rooke, J.A.; McKain, N.; Duthie, C.A.; Hyslop, J.J.; Ross, D.W.; Waterhouse, A.; Watson, M.; Roehe, R. The rumen microbial metagenome associated with high methane production in cattle. **BMC Genomics**, 16(839): 1-14, 2015.
- Wallace, R.J.; Snelling, T. J.; McCartney, C.A.; Tapio, I.; Strozzi, F. Application of metagenomics techniques to understand greenhouse gas emissions originating from ruminal metabolism. **Genetics Selection Evolution**, 49(9): 1-11, 2017.