

PREDICCIÓN Y MITIGACIÓN DE LAS EMISIONES DE METANO DE LOS RUMIANTES

PREDICTION AND AMELIORATION OF METHANE EMISSIONS FROM RUMINANTS

Ungerfeld, E.M.^{1*}; Escobar-Bahamondes, P.¹; Muñoz, C.²

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA Carillanca, Camino Cajón – Vilcún, Temuco, Chile. ²Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA Remehue, Ruta 5 km 8 norte Osorno, Osorno, Chile.

*Autor de correspondencia: emilio.ungerfeld@inia.cl

RESUMEN

Los sistemas ganaderos son altos emisores de metano entérico proveniente de la fermentación en el rumen. Existe interés creciente en controlar la producción de metano en el rumen debido a sus efectos ambientales y la pérdida de energía que supone. Varias estrategias de mitigación de la producción de metano por los rumiantes están siendo investigadas, como alimentación, selección de animales de baja emisión, intensificación de la producción animal, compuestos secundarios de plantas, inhibidores químicos, nitrato, inmunización, defaunación, acetogenesis reductiva, y bacteriófagos. Adicionalmente, se investiga en el desarrollo de modelos predictivos de la producción de metano entérica en función de la producción de leche o la composición de la dieta para construir inventarios de emisiones de gases de efecto invernadero por países, regiones o sectores.

Palabras clave: Cambio climático, gases de efecto invernadero, metano, rumen, rumiantes, mitigación, modelos de predicción.

ABSTRACT

Livestock production systems emit enteric methane originated in rumen fermentation. There is growing interest in controlling methane production in the rumen because of its effects on climate change and the energy utilization inefficiency implied by methane losses to the atmosphere. There are currently several strategies of enteric methane abatement being investigated: nutrition, selection of low emitting animals, intensification of production, plant secondary compounds, chemical inhibitors, nitrate, immunization, defaunation, reductive acetogenesis, and bacteriophages. Research is also performed in developing predictive models of methane emissions based on animal production or diet composition, which can be used to build inventories of greenhouse gases emissions by country, region or sector.

Keywords: Climate change, greenhouse gases, methane, rumen, ruminants, prediction models.

Agroproductividad: Vol. 11, Núm. 2, febrero. 2018, pp: 34-39.

Recibido: diciembre, 2017. **Aceptado:** febrero, 2018.

INTRODUCCIÓN

El dióxido de carbono (CO₂), el metano (CH₄) y el óxido nitroso (N₂O) son gases con efecto invernadero y sus concentraciones en noviembre 2017 superaron las más altas registradas durante los últimos 800,000 años (Global Greenhouse Gas Reference Network). Los principales gases de efecto invernadero (GEI) en los sistemas ganaderos son el CH₄ (43 %), el N₂O (29 %) y el CO₂ (27 %). El ganado vacuno emite cerca de 2.5 millones de toneladas anuales de CO₂ equivalente (CO₂-eq) principalmente como CH₄ entérico (77 %), siendo la producción de carne bovina la más importante (36 %) seguida de leche (30 %).

Producción de metano en el rumen

Los rumiantes poseen en su rumen una compleja comunidad microbiana que digiere y fermenta los alimentos ingeridos, y que confiere a estos animales la capacidad de transformar fibra lignocelulósica que los seres humanos no podemos digerir a productos útiles como carne, leche, lana, cuero y tracción animal. En el rumen los polisacáridos son digeridos a mono y oligosacáridos. Los microorganismos ruminales metabolizan luego estos azúcares vía glucólisis a piruvato y finalmente ácidos grasos volátiles (AGV), principalmente acético, propiónico y butírico.

Durante la glicólisis y la descarboxilación oxidativa del piruvato a acetyl-CoA se reducen co-factores que necesitan ser re-oxidados para que la fermentación pueda continuar (Figura 1). Los cofactores transfieren electrones a protones formando hidrógeno (H₂), el cual es transferido desde los organismos fermentativos a Archaea metanógenicas, que utilizan el H₂ para reducir el CO₂ a CH₄.

El CH₄ es el principal sumidero de electrones en el ambiente anaeróbico del rumen, pero en la formación de propionato también se incorpora hidrógeno metabólico proveniente de cofactores reducidos. Es así que la producción de acetato, y en menor medida la de butirato, a partir de hexosas resultan en la liberación de equivalentes reductores que en su mayo-

ría estarán disponibles para la metanogénesis, mientras que la producción de propionato incorpora equivalentes reductores compitiendo con la formación de CH₄.

El control de la producción de metano en el rumen

Existe interés creciente por disminuir la producción de CH₄ por los rumiantes debido a sus efectos sobre el cambio climático y las pérdidas de energía que representan. Existen varias estrategias de control de las emisiones de CH₄ por los rumiantes que están siendo investigadas, algunas de ellas más cerca de la aplicación práctica, y otras en etapas más tempranas de investigación (Figura 2).

Intensificación de la producción. Cuando la productividad animal mejora, la cantidad de CH₄ producido relativo a la cantidad de producto generado disminuye (intensidad de emisiones). Por ejemplo, las emisiones totales de CH₄ pueden reducirse en un 67 % si se usa una sola vaca de alto rendimiento, en lugar de dos vacas de bajo rendimiento, para producir 10,000 kg de leche por año (Yan *et al.*, 2006). La intensificación de la producción es una estrategia atractiva para los agricultores, está fácilmente disponible para ser implementada y puede ayudar a satisfacer la creciente demanda de alimentos de origen animal. Debe tenerse en cuenta que algunas herramientas de intensificación pueden resultar en aumentos en emisiones de otros gases de efecto invernadero, como mayor uso de combustibles fósiles, óxido nitroso de fertilizantes nitrogenados, etc.

Alimentación. Existe una relación directa entre nivel de consumo de materia seca y producción de CH₄ (Hristov *et al.*, 2013). Sin embargo, la composición nutricional de la dieta también juega un rol importante en la producción de CH₄. Por ejemplo, la presencia de fibra insoluble de las paredes celulares en la dieta favorece una mayor relación de acetato:propionato y mayor producción de CH₄. En cambio la fermentación de carbohidratos solubles produce menor producción de CH₄ (Johnson and Johnson, 1995).

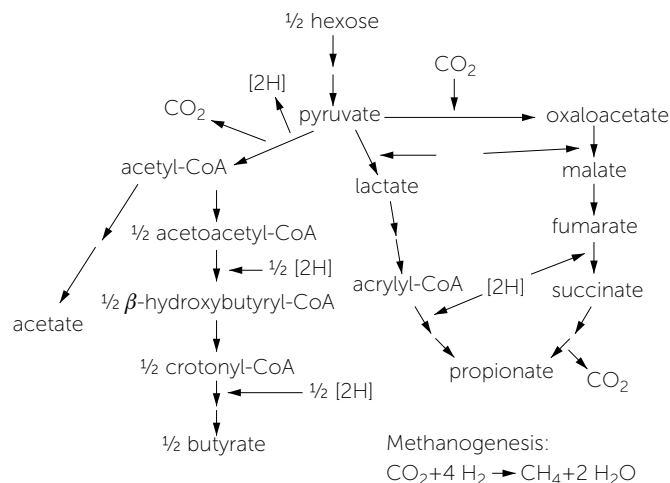


Figura 1. Principales vías fermentativas en el rumen (Ungerfeld and Forster, 2011).

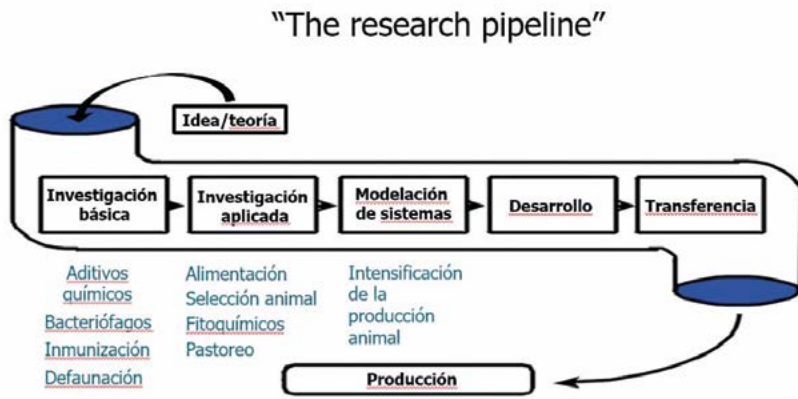


Figura 2. La "tubería de la investigación". Algunas estrategias de investigación en el control de las emisiones de CH₄ por los rumiantes y sus estados actuales aproximados.

Manejo del pastoreo. La producción de CH₄ aumenta a medida que el forraje madura (Johnson and Johnson, 1995). Muñoz *et al.* (2016) demostraron que un correcto manejo de pastoreo que permitía ofrecer a vacas de leche una masa forrajera pre-pastoreo de ~2200 kg materia seca por ha, resultó en menores emisiones de CH₄ que un manejo de pastoreo con masa forrajera pre-pastoreo de ~5000 kg materia seca por ha.

Selección animal. Las emisiones de CH₄ tienen un componente hereditario (de Haas *et al.*, 2017). Se han reportado asociaciones entre la producción individual de CH₄ y la composición de la comunidad microbiana subyacente del rumen. Otra estrategia de selección animal se ha focalizado en seleccionar animales más eficientes en el uso de alimentos, que se ha comprobado producen menos CH₄ (Fitzsimons *et al.*, 2013).

Aditivos químicos. Compuestos halogenados análogos del CH₄ como el cloroformo y el bromoclorometano son inhibidores potentes de la metanogénesis (Clapper-ton, 1974), pero su toxicidad hace que no sean considerados fuera de la investigación. Los ionóforos poseen efectos moderados en la producción de CH₄, existiendo evidencias de que sus efectos podrían ser transitorios (Eckard *et al.*, 2010). Más recientemente, el 3-nitrooxipropanol está siendo evaluado en producción de carne (Romero-Perez *et al.*, 2014) y leche (Hristov *et al.*, 2015), pero aún no está disponible comercialmente. A pesar de que los inhibidores de la metanogénesis son la estrategia más efectiva de mitigación de la producción de CH₄ en el rumen (Veneman *et al.*, 2016), no han promovido respuestas consistentes en productividad animal y pueden ser rechazados por los consumidores en algunos mercados.

Compuestos secundarios de plantas. Los taninos pueden tener efectos moderados en la producción de CH₄, aunque dosis altas disminuyen el consumo y la digestibilidad. Las saponinas también pueden disminuir la producción de CH₄ inhibiendo protozoa (Eckard *et al.*, 2010). En general, los fitoquímicos tienen una efectividad variable debido a la variación en su composición química de acuerdo al estado fenológico de la planta, localización, etc.

Nitrato. La reducción de nitrato a amonio es termodinámicamente más favorable que la reducción de CO₂ a CH₄ (Cord-Ruwisch *et al.*, 1988). Además, el compuesto intermediario de la reducción de nitrato a amonio, el nitrito, es tóxico para los metanógenos. Sin embargo, el nitrito también es tóxico para el animal si es absorbido, formando meta-hemoglobina, que no puede transportar oxígeno. La reducción de nitrato a nitrito es más rápida que la reducción de nitrito a amonio, y el nitrito se acumula en el rumen y se absorbe en la sangre, causando toxicidad y hasta la muerte. Es posible sin embargo adaptar el rumen incluyendo gradualmente nitrato en la dieta para estimular poblaciones microbianas que transforman el nitrito en amonio (Yang *et al.*, 2016). La suplementación con nitrato puede aumentar las emisiones de óxido nítrico (Petersen *et al.*, 2015).

Defaunación. Una proporción importante del CH₄ ruminal es producido por metanógenos simbiotes de protozoa, por lo que la eliminación de protozoa, o defaunación, ha sido estudiada como una herramienta potencial para disminuir las emisiones de CH₄. No existe aún un método de defaunación que sea práctico para aplicar a nivel de producción, aunque algunos extractos vegetales pueden disminuir el número de protozoa (Newbold *et al.*, 2015).

Acetogénesis reductiva. La reducción de CO₂ a acetato es llevado a cabo por un grupo amplio de microorganismos no especializados. En el rumen la metanogénesis mantiene una concentración de H₂ lo suficientemente baja como para que la acetogénesis reductiva sea termodinámicamente inviable (Ungerfeld and Kohn, 2006). Si la metanogénesis fuese inhibida a través de otro mecanismo, el hidrógeno metabólico no utilizado en la producción de CH₄ podría ser redirigido hacia acetato, que el animal puede absorber y utilizar como fuente de

energía y carbono (Ungerfeld, 2013). Organismos acetogénicos reductivos dominan sobre los metanógenos en los tractos digestivos de humanos, algunas termitas, roedores, cerdos, y en corderos antes del establecimiento de metanógenos (Joblin, 1999).

Inmunización contra metanógenos. Con esta estrategia se han logrado resultados modestos hasta el momento. Los anticuerpos que se generen tienen que ser efectivos contra un rango amplio de metanógenos. Se busca desarrollar vacunas conteniendo anticuerpos contra proteínas de la pared celular comunes a las diferentes especies de metanógenos del rumen (Eckard *et al.*, 2010).

Bacteriófagos. Aún es poco lo que se conoce de los bacteriófagos ruminales. Algunos fagos han sido aislados de metanógenos en otros ambientes (Eckard *et al.*, 2010).

Predicción de la producción de metano

En la última reunión de la "Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático" en París 2015, el mundo con excepción de Estados Unidos se compro-

metió a fortalecer una respuesta global a la amenaza del cambio climático mediante la disminución de las emisiones totales de GEI. Para el monitoreo de los avances en disminución de GEI se requiere que los países firmantes presenten un inventario nacional anual de emisiones.

Los avances en la comprensión de la fermentación ruminal permiten desarrollar modelos matemáticos útiles para que la industria ganadera determine sus impactos ambientales. Las metodologías pueden clasificarse de menor a mayor complejidad. El Panel Intergubernamental del Cambio Climático (IPCC, 2006) sugiere el uso de las metodologías Tier 1, Tier 2 o Tier 3 para cada categoría animal (Cuadro 1).

La metodología Tier 1 indica el uso de un factor de emisión anual que se multiplica por el número de animales presentes en un país. Estos factores también han sido sugeridos por IPCC (2006) de acuerdo al tipo de animal y lugar geográfico (Cuadros 2 y 3).

La metodología Tier 2 indica que cualquier bovino alimentado con forrajes hasta un 10 % del total de la dieta base materia seca (o bien ≤ 90 % de concentrado base materia seca), su producción diaria de CH_4 será equivalente a 6.5 % de su ingesta de energía bruta. En caso del ganado de carne en corral de engorda (dieta ≥ 90 % de concentrado base materia seca), el 3.0 % de su ingesta de energía bruta será eliminada como CH_4 . El cálculo final por cada animal está configurado por la estimación de consumo diario, su conversión en energía bruta, la proporción de concentrado en la dieta y su pérdida energética como CH_4 .

La metodología Tier 3 posee una mayor precisión en la estimación de CH_4 entérico debido a que se utilizan modelos empíricos o determinísticos basados en variables o

expresiones matemáticas complejas que consideran aspectos del animal (por ejemplo peso vivo, producción) y/o la composición química de la dieta (por ejemplo cantidad de fibra detergente neutro, grasa). Algunos ejemplos de ecuaciones son mostrados en el Cuadro 4.

A pesar de los avances, la predicción aún es inexacta comparada con datos observados.

Cuadro 1. Método sugerido para cálculo de inventario de acuerdo a la categoría de animal doméstico o granja.

Categoría	Método IPCC 2006
Vacas Lecheras	Tier 2 o Tier 3
Otro tipo de ganado bovino	Tier 2 o Tier 3
Búfalos	Tier 1 o Tier 2
Ovejas	Tier 1 o Tier 2
Cabras	Tier 1
Camellos	Tier 1
Caballos	Tier 1
Mulas y Asnos	Tier 1
Otros (Alpacas, Llamas, Ciervos)	Tier 1

Cuadro 2. Factores de emisión de metano para método Tier 1 (kg CH_4 por cabeza por año).

Categoría	Países desarrollados	Países en desarrollo	Peso vivo (kg)
Búfalos	55	55	300
Ovejas	8	5	65 países desarrollados
			45 países en desarrollo
Cabras	5	5	40
Camellos	46	46	570
Caballos	18	18	550
Mulas y Asnos	10	10	245
Ciervos	20	20	120
Alpacas	8	8	65

Cuadro 3. Factores de emisión de metano para método Tier 1 para ganado bovino (kg CH₄ por cabeza por año).

Región	Categoría de ganado	Factor de emisión	Comentarios
Norteamérica	Ganado lechero	128	Producción anual promedio por vaca 8400 kg leche.
	Otro tipo de Ganado	53	Ganado de carne, toros, terneros, vaquillas, ganado en corral de engorda.
Europa del Oeste	Ganado Lechero	117	Producción anual promedio por vaca 6000 kg leche.
	Otro tipo de Ganado	57	Ganado de carne, toros, terneros, vaquillas.
Europa del Este	Ganado Lechero	99	Producción anual promedio por vaca 2550 kg leche.
	Otro tipo de Ganado	58	Ganado de carne, toros, terneros, vaquillas.
Oceanía	Ganado Lechero	90	Producción anual promedio por vaca 2200 kg leche.
	Otro tipo de Ganado	60	Ganado de carne, toros, terneros, vaquillas.
Latinoamérica	Ganado Lechero	72	Producción anual promedio por vaca 800 kg leche.
	Otro tipo de Ganado	56	Ganado de carne, toros, terneros, vaquillas.
Asia	Ganado Lechero	68	Producción anual promedio por vaca 1650 kg leche.
	Otro tipo de Ganado	47	Incluye vacas multipropósito, toros y animales jóvenes.
África y Medio Oriente	Ganado Lechero	46	Producción anual promedio por vaca 1650 kg leche.
	Otro tipo de Ganado	31	Incluye vacas multipropósito, toros y animales jóvenes.

Cuadro 4. Ecuaciones de predicción de metano, método Tier 3 (g CH₄ por día).

Fuente	Especie	Ecuación
Moe and Tyrrell (1979)	Vacas en lactancia	$[0,341 + 0.511 \times \text{NSC} (\text{kg día}^{-1}) + 1.74 \times \text{HC} (\text{kg día}^{-1}) + 2.65 \times \text{CEL} (\text{kg día}^{-1})] / 0.05565$
Ricci <i>et al.</i> (2013)	Vacas en lactancia	$79.87 + 9.95 \times \text{CMS} - 15.15 \times \text{Feed} - 74.48 \times \text{Stage} - 3.67 \times \text{CMS} \times \text{Feed} + 10.90 \times \text{CMS} \times \text{Stage}$
Moraes <i>et al.</i> (2014)	Vacas en lactancia	$-9.311 + 0.042 \times \text{CEB} + 0.094 \times \text{FDN} - 0.381 \times \text{EE} + 0.008 \times \text{PV} + 1.621 \times \text{Grasa láctea}$
	Vacas no lactantes	$2.880 + 0.053 \times \text{CEB} - 0.190 \times \text{EE}$
Escobar-Bahamondes <i>et al.</i> (2017)	Ganado de carne (dieta >=40 % forraje BMS)	$71.5 + 0.12 \times \text{PV} + 0.10 \times \text{CMS}^3 - 244.8 \times \text{EE}^3$
Moraes <i>et al.</i> (2014)	Ganado de carne (dieta <=20 % forraje BMS)	$-0.221 + 0.048 \times \text{CEB} + 0.005 \times \text{PV}$
Escobar-Bahamondes <i>et al.</i> (2017)	Ganado de carne (dieta <=20 % forraje BMS)	$-10.1 + 0.21 \times \text{PV} + 0.36 \times \text{CMS}^2 - 69.2 \times \text{EE}^3 + 13.0 \times (\text{PC}:\text{FDN}) - 4.9 \times$
Ellis <i>et al.</i> (2007)	Ganado de carne (dieta <=20 % forraje BMS)	$((-1.02 + 0.681 \times \text{CMS} + 0.0481 \times \text{forraje} (\%)) / 55.54) \times 1000$

BMS, Base materia seca, CEB, Consumo de energía bruta (MJ d⁻¹), CEL=Celulosa, CF=Fibra cruda, CMS=Consumo de material seca (kg d⁻¹), DMD=DM digestibilidad (kg kg⁻¹ DM), ED=Consumo de Energía Digestible (MJ d⁻¹), EDm=Proporción (%) de EB, EE=Proporción de extracto etéreo (% MS), FDN=Proporción de fibra detergente neutro (% MS), Feed=Tipo de alimento (bajo en concentrados (<=500 g kg⁻¹ MS)=0 o alto concentrado (>500 g kg⁻¹ MS)=1, HC=Hemicelulosa, MEI=Consumo de energía metabolizable (MJ d⁻¹), MN=Múltiplo de mantención, MY=Rendimiento de producción de leche, NFE=Extracto libre de Nitrógeno, NSC=carbohidratos no estructurales, PC=Proteína cruda, PV, peso vivo (kg), Stage=Estado fisiológico (seca=0 y en lactancia=1).

A pesar de esta limitación, algunos de estos modelos han sido incorporados a modelos de cálculo de requerimientos de ganado de carne (NASEM; National Academies of Sciences, 2016) para estimar emisiones a nivel de predial o construir inventarios nacionales.

La estimación de la efectividad de estrategias particulares de mitigación depende de la precisión de los modelos utilizados para la estimación de CH₄ entérico. Por

tanto, una predicción precisa es un requisito para calcular una estimación realista del balance completo de GEI de los predios ganaderos y de los inventarios nacionales de GEI.

AGRADECIMIENTO

Se agradece el apoyo de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica, Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Proyecto 1151355.

LITERATURA CITADA

- Clapperton J.L. 1974. The effect of trichloroacetamide, chloroform and linseed oil given into the rumen of sheep on some of the end-products of rumen digestion. *British Journal of Nutrition* 32: 155-161.
- Cord-Ruwisch R., Seitz H.J., Conrad R. 1988. The capacity of hydrogenotrophic anaerobic bacteria to compete for traces of hydrogen depends on the redox potential of the terminal electron acceptor. *Archives of Microbiology* 149: 350-357.
- de Haas Y., Pszczola M., Soyeyurt H., Wall E., Lassen J. 2017. IPhenotypes to genetically reduce greenhouse gas emissions in dairying. *Journal of Dairy Science* 100: 855-870.
- Eckard R.J., Grainger C., De Klein C.A. M. 2010. Options for the abatement of methane and nitrous oxide from ruminant production: a review. *Livestock Science* 130: 47-56. doi: 10.1016/j.livsci.2010.02.010.
- Ellis J.L., Kebreab E., Odongo N.E., McBride B.W., Okine E.K., France J. 2007. Prediction of methane production from dairy and beef cattle. *Journal of Dairy Science* 90: 3456-3466. doi: 10.3168/jds.2006-675.
- Escobar-Bahamondes P., Oba M., Beauchemin K. A. 2017. An evaluation of the accuracy and precision of methane prediction equations for beef cattle fed high-forage and high-grain diets. *Animal* 11: 68-77. doi: 10.1017/s175173111600121x.
- Fitzsimons C., Kenny D. A., Deighton M.H., Fahey A. G., McGee M. 2013. Methane emissions, body composition, and rumen fermentation traits of beef heifers differing in residual feed intake. *Journal of Animal Science* 91: 5789-5800. doi: 10.2527/jas.2013-6956.
- Global Greenhouse Gas Reference Network. <https://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/history.html> y <https://www.esrl.noaa.gov/gmd/news/7074.html>
- Hristov A.N., Oh J., Giallongo F., Frederick T.W., Harper M.T., Weeks H.L., et al. 2015. An inhibitor persistently decreased enteric methane emission from dairy cows with no negative effect on milk production. *Proceedings of the National Academy of Science of the U.S.A.* 112: 10663-10668. doi: 10.1073/pnas.1504124112.
- Hristov A.N., Oh J., Lee C., Meinen R., Montes F., Ott T., et al. 2013. Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production – A review of technical options for non-CO₂ emissions. Rome, Italy: FAO.
- IPCC. 2006. 2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. IPCC National Greenhouse Gas Inventories Programme Retrieved 12 February 2018, 2018, from http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/pdf/0_Overview/V0_0_Cover.pdf.
- Joblin K.N. 1999. Ruminant acetogens and their potential to lower ruminant methane emissions. *Australian Journal of Agricultural Research* 50: 1307-1313. doi: 10.1071/AR99004.
- Johnson K.A., Johnson D.E. 1995. Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science* 73: 2483-2492.
- Moe P.W., Tyrrell, H.F. 1979. Methane production in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 62: 1583-1586. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(79)83465-7.
- Moraes L.E., Strathe A.B., Fadel J.G., Casper D.P., Kebreab E. 2014. Prediction of enteric methane emissions from cattle. *Glob. Change Biol.* 20: 2140-2148. doi: 10.1111/gcb.12471.
- Muñoz C., Letelier P.A., Ungerfeld E.M., Morales J.M., Hube S., Perez-Prieto L.A. 2016. Effects of pregrazing herbage mass in late spring on enteric methane emissions, dry matter intake, and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy science* 99: 7945-7955. doi: 10.3168/jds.2016-10919.
- NASEM (National Academies of Sciences, Engineering and Medicine) 2016. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. Washington, DC: The National Academy Press.
- Newbold C.J., de la Fuente G., Belanche A., Ramos-Morales E., McEwan N.R. 2015. The role of ciliate protozoa in the rumen. *Frontiers in Microbiology* 6:1313. doi: 10.3389/fmicb.2015.01313.
- Petersen S.O., Hellwing A.L., Brask M., Hojberg O., Poulsen M., Zhu Z., Baral K.R., Lund P. 2015. Dietary nitrate for methane mitigation leads to nitrous oxide emissions from dairy cows. *Journal of Environmental Quality* 44: 1063-1070. doi: 10.2134/jeq2015.02.0107.
- Ricci P., Rooke J.A., Nevison I., Waterhouse A. 2013. Methane emissions from beef and dairy cattle: quantifying the effect of physiological stage and diet characteristics. *Journal of Animal Science* 91: 5379-5389. doi: 10.2527/jas.2013-6544.
- Romero-Perez A., Okine E.K., McGinn S.M., Guan L.L., Oba M., Duval S.M., Duval S.M., Kindermann M., Beauchemin K.A. 2014. The potential of 3-nitrooxypropanol to lower enteric methane emissions from beef cattle. *Journal of Animal Science* 92: 4682-4693. doi: 10.2527/jas2014-7573.
- Ungerfeld E.M. 2013. A theoretical comparison between two ruminal electron sinks. *Frontiers in Microbiology* 4:319. doi: 10.3389/fmicb.2013.00319.
- Ungerfeld E.M., Forster R.J. 2011. A meta-analysis of malate effects on methanogenesis in ruminal batch cultures. *Animal Feed Science and Technology* 166-167: 282-290. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2011.04.018.
- Ungerfeld E.M., Kohn R.A. 2006. The role of thermodynamics in the control of ruminal fermentation. *In: Sejrsen K., Hvelplund T., Nielsen M.O. Ruminant Physiology*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands. pp. 55-85.
- Veneman J.B., Saetnan E.R., Clare A.J., Newbold C.J. 2016. MitiGate; an online meta-analysis database for quantification of mitigation strategies for enteric methane emissions. *Science of the Total Environment* 572: 1166-1174. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.08.029.
- Yan T., Mayne C.S., Porter M.G. 2006. Effects of dietary and animal factors on methane production in dairy cows offered grass silage-based diets. *International congress Series* 1293: 123-126.
- Yang C., Rooke J.A., Cabeza I., Wallace R.J. 2016. Nitrate and inhibition of ruminal methanogenesis: microbial ecology, obstacles, and opportunities for lowering methane emissions from ruminant livestock. *Frontiers in Microbiology* 7:132. doi: 10.3389/fmicb.2016.00132.