



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE SINOP

INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

Predição de emissão de metano entérico de vacas leiteiras

Andrea Beltrani Donadia

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus* Universitário de Sinop, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Zootecnia.

Sinop, Mato Grosso

Fevereiro de 2018

ANDREA BELTRANI DONADIA

Predição de emissão de metano entérico de vacas leiteiras

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus* Universitário de Sinop, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração: Zootecnia.

Data da Defesa: 16 de fevereiro de 2018.

Orientador: Prof. Dr. André Soares de Oliveira

Sinop, Mato Grosso

Fevereiro de 2018

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

B453p Donadia, Andrea Beltrani.
Predição de emissão de metano entérico de vacas leiteiras /
Andrea Beltrani Donadia. -- 2018
xiii, 69 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: André Soares de Oliveira.
Co-orientadora: Márcia Rodrigues Carvalho Oliveira.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso,
Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais, Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia, Sinop, 2018.
Inclui bibliografia.

1. Gases do efeito estufa. 2. Modelo teórico. 3. Sistema
nutricional. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Avenida Alexandre Ferronato, 1200 - Reserva 35 - Distrito Industrial - Cep: -Sinop/MT
Tel : - Email : ppgzootecnia@ufmt.br

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO : "Predição de emissão de metano entérico de vacas leiteiras "

AUTOR : Mestranda ANDREA BELTRANI DONADIA

Dissertação defendida e aprovada em 16/02/2018.

Composição da Banca Examinadora:

Presidente Banca / Orientador	Doutor(a)	André Soares de Oliveira
Instituição :	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO	
Coorientadora	Doutor(a)	Márcia Rodrigues Carvalho Oliveira
Instituição :	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO	
Examinador Interno	Doutor(a)	Erick Darlisson Batista
Instituição :	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO	
Examinador Interno	Doutor(a)	Eduardo Henrique Bevitori Kling de Moraes
Instituição :	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO	
Examinador Externo	Doutor(a)	Luiz Gustavo Ribeiro Pereira
Instituição :	Embrapa Gado de Leite	

SINOP, 16/02/2018.

DEDICATÓRIA

A Deus pelo dom da vida e realização desse sonho.

Aos meus pais Teodoro A. Donadia e Marisa A. C. B. Donadia, que sempre acreditaram em mim e não mediram esforços na concretização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que com a sua bondade me concedeu saúde e sabedoria para que pudesse concluir mais uma etapa da minha vida.

Aos meus pais, pelo amor, carinho, dedicação e incentivo financeiro durante toda a minha vida.

Aos meus avós maternos, Abílio Beltrani e Maria Dolores C. Beltrani, e aos avós paternos, Alfredo Donadia (in memorian) e Teodolinda Scalzer Donadia, pelo amor e apoio na realização dos meus sonhos.

Agradeço ao meu orientador, Professor Doutor André Soares de Oliveira, por toda a paciência, confiança e dedicação disponibilizada durante a realização desta pesquisa. Acima de tudo, obrigada por me orientar e me inspirar a seguir a carreira acadêmica.

Aos membros da banca Dra. Márcia Rodrigues Carvalho Oliveira; Dr Eduardo Henrique Bevitori Kling de Moraes; Dr Erick Darlisson Batista e Dr Luiz Gustavo Ribeiro Pereira.

À todos os integrantes do laboratório de pesquisa em pecuária leiteira que fizeram parte desta caminhada, pela amizade, companheirismo, momentos de alegria e descontração, além de apoio em todos os momentos. Em especial agradeço: Daiane Caroline de Moura, Karine Claudia Alessi, Suziane Rodrigues Soares, Rodrigo de Nazaré Santos Torres, Henrique Melo da Silva, Mari Lucia Marques Xavier, Leticia Menegazzo e João Rafael de Assis.

Aos meus irmãos Jefferson B. Donadia e William B. Donadia, que mesmo distantes, sempre estão me apoiando e torcendo por mim.

À minha irmã Lillian B. Donadia, pelo apoio, carinho, compreensão e muita paciência.

Ao meu namorado Tiago Luiz Holzbach, pelo amor e apoio em todos os momentos.

Aos meus amigos por toda motivação e amizade.

À Universidade Federal de Mato Grosso, e ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia (PPGZ), pela oportunidade do Mestrado em Zootecnia e todo o aprendizado durante este período.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À todos aqueles que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Andrea Beltrani Donadia, filha de Teodoro Antonio Donadia e Marisa A. C. B. Donadia nasceu em Colíder, estado de Mato Grosso, no dia 11 de Dezembro de 1992. Em 2010, iniciou o curso de bacharel em Zootecnia pela Universidade Federal de Mato Grosso Campus Sinop, obtendo o diploma em 2015.

Em 2016, ingressou no curso de mestrado em Nutrição e Alimentação de Ruminantes pelo Programa de Pós Graduação em Zootecnia (PPGZ), na mesma instituição.

RESUMO

DONADIA, Andrea Beltrani. Dissertação de Mestrado (Zootecnia), Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus* Universitário de Sinop, Fevereiro de 2018, 48 f. **Predição de emissão de metano entérico de vacas leiteiras.** Orientador: Prof. Dr André Soares de Oliveira. Coorientadora: Profa. Dra. Márcia Rodrigues Carvalho Oliveira.

O metano entérico em ruminantes é um produto do processo de fermentação entérica, principalmente ruminal e é eliminado majoritariamente através da eructação. Uma meta-análise foi realizada como objetivo de elucidar os fatores que afetam a intensidade de CH₄ entérico e a produção de CH₄ entérico em vacas leiteiras, desenvolver modelos para prever a produção de CH₄ entérico em vacas leiteiras, usando apenas características associadas aos animais como variáveis preditivas e comparar com os modelos de variáveis preditoras com dietas; e avaliar a qualidade da predição dos modelos propostos com 43 modelos existentes para prever a produção de CH₄ entérico utilizando um conjunto de dados independente. O conjunto de dados foi composto por 115 artigos (419 médias de tratamentos oriundas de 125 experimentos) publicados em periódicos científicos. O conjunto de dados foi dividido aleatoriamente em dois sub-conjuntos. O primeiro subconjunto foi utilizado para a construção dos modelos para prever a produção de CH₄ entérico (80 artigos; 90 experimentos; 301 médias). E o segundo sub-conjunto foi utilizado para avaliação da acurácia e precisão da predição dos modelos propostos e existentes (35 artigos; 35 experimentos; 118 médias de tratamento). O conjunto de dados foi oriundo de 18 países, apresentou uma ampla variação nas características dos animais, dieta e emissão de metano. Câmara respirométrica, técnica do SF₆ e GreenFeed® foram os métodos utilizados para mensurar a produção de CH₄ entérico, intensidade da produção de CH₄ entérico e o rendimento da produção de CH₄ entérico. Não observamos diferenças nas médias de rendimento de CH₄ entérico ($19,9 \pm 1,0$ g metano/kg CMS; $P = 0,13$) e intensidade de CH₄ entérico ($19,9 \pm 1,0$ g metano/kg CMS; $P = 0,13$) observadas nos estudos que utilizaram os métodos para quantificar a produção de CH₄

entérico. As variáveis relacionadas ao animal influenciaram mais a produção de CH₄ entérico do que as variáveis associadas com a dieta (90,18% versus 3,30% da variação total da produção de CH₄ entérico por vaca/dia). A conversão alimentar teve maior efeito na intensidade da produção de CH₄ entérico do que o rendimento da produção de CH₄ entérico (59,0% versus 39,6% da variação total da intensidade da produção de CH₄ entérico). Nos modelos Animal I (sem consumo de matéria seca (CMS)) e II (com CMS) foram utilizados a produção de leite e peso metabólico como variáveis preditoras. Os modelos Dieta I e II se ajustaram com teores de extrato etéreo e matéria orgânica digestível. Os modelos Animal + Dieta I e II foram ajustados com todas variáveis dos modelos Dieta e Animal. O modelo Animal I apresentou menor valor de coeficiente de correlação de concordância (CCC) e maior ($P < 0,05$) raiz quadrada do quadrado médio do erro da predição (RQMEP) em relação aos modelos Dieta II, Animal + Dieta I e II. O modelo Animal II, embora apresentou valor de CCC semelhante aos modelos Dieta II, Animal + Diet I e II, a RQMEP foi maior ($P < 0,05$) do que esses modelos. Assim, os modelos de predição da produção de CH₄ entérico utilizando apenas variáveis do animal não apresentaram acurácia semelhante aos modelos com variáveis associadas à dieta e ao animal. Entre os seis modelos propostos, os modelos Animal + Dieta I, Animal + Dieta II e Dieta II foram o que apresentaram as melhores qualidades de predição. Os modelos II e III de Nielsen et al. (2013) e o Modelo III de Storlien et al. (2014) foram os modelos existentes mais semelhantes ao modelo Animal + Dieta I. Recomendamos o uso do modelo Animal + Dieta I ou Animal + Dieta II ou Dieta II para predição da produção de CH₄ entérico de vacas leiteiras. Esta pesquisa é parte de um projeto conduzido pelo Laboratório de Pesquisa em Pecuária de Leite da UFMT-Sinop, para desenvolver um novo sistema nutricional aplicada à bovinos de leite, *Nutrition System to Dairy Cattle* (NS-Dairy Cattle).

Palavras-chaves: gases do efeito estufa, modelo teórico, sistema nutricional

ABSTRACT

DONADIA, Andrea Beltrani. Dissertação de Mestrado (Zootecnia), Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus* Universitário de Sinop, February of 2018, 48 f. **Prediction of enteric methane emission from dairy cows.** Adviser: Prof. Dr André Soares de Oliveira. Co-adviser: Prof. Dr Márcia Rodrigues Carvalho Oliveira.

Enteric methane (CH₄) in ruminants is a product of the enteric fermentation process, mainly ruminal, and is largely eliminated by eructation. A meta-analysis was performed to elucidate the factors affect enteric CH₄ intensity and enteric CH₄ production in dairy cows, to develop models to predict the production of enteric CH₄ in dairy cows, using only characteristics associated with animals as predictive variables and to compare with the models of predictor variables with diets; and to evaluate the prediction quality of the proposed models with 43 existing models to predict enteric CH₄ production using an independent data set. The data set consisted of 115 articles (419 average treatments of 125 experiments) published in scientific journals. The data set was randomly divided into two sub-sets. The first subset was used to construct the models to predict predict enteric CH₄ production (80 articles, 90 experiments, 301 means). And the second sub-set was used to evaluate the precision and accuracy of the prediction of prosposed and existing models (35 articles, 35 experiments, 118 treatment means). The data set originated in 18 countries, showed a wide variation in the characteristics of the animals, diet and methane emission. Chamber, SF₆ technique and GreenFeed® were the methods used to measure enteric CH₄ production, intensity of enteric CH₄ production and yield of enteric CH₄ production. We did not observe differences in the means of enteral CH₄ yield (19.9 ± 1.0 g methane / kg DMI, P = 0.13) and intensity of enteric CH₄ (19.9 ± 1.0 g methane / kg DMI; = 0.13) observed in studies using methods to quantify enteric CH₄ production. he variables related to the animal had a greater influence on the production of enteric CH₄ than the variables associated with the diet (90.18% versus 3.30% of the total change in enteric CH₄ production per cow / day). Feed conversion had a greater effect on the intensity of enteric CH₄ production than the yield of enteric CH₄ production

(59.0% versus 39.6% of the total change in intensity of enteric CH₄ production). In the Animal I models (without dry matter intake (DMI)) and II (with DMI) milk production and metabolic weight were used as predictor variables. The Diet I and II models were adjusted with ethereal extract contents and digestible organic matter. The Animal + Diet I and II models were adjusted with all variables of the Diet and Animal models. The animal model I presented the lowest correlation coefficient (CCC) and highest ($P < 0.05$) square root of the mean square of the prediction error (RMSEP) in relation to the Diet II, Animal + Diet I and II. The Animal II model, although presented a CCC similar to the Diet II, Animal + Diet I and II models, the RMSEP was higher ($P < 0.05$) than these models. Thus, the prediction models of enteric CH₄ production using only animal variables did not present similar accuracy to models with variables associated to diet and animal. Among the six models proposed, the Animal + Diet I, Animal + Diet II and Diet II models presented the best predictive qualities. The models II and III of Nielsen et al. (2013) and Model III of Storlien et al. (2014) were the most similar models to the Animal + Diet I model. We recommend using the Animal + Diet I or Animal + Diet II or Diet II model to predict enteric CH₄ production of dairy cows. This research is part of a project conducted by the UFMT-Sinop Dairy Cattle Research Laboratory to develop a new nutritional system applied to dairy cattle, the Nutrition System to Dairy Cattle (NS-Dairy Cattle).

Keywords: greenhouse gases, theoretical model, nutritional system

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Importância do metano.....	3
2.2 Métodos utilizados para quantificar a produção de metano	5
2.3 Modelos de predição de emissão de metano entérico para vacas leiteiras.....	7
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10
CAPÍTULO 01	16
PREDIÇÃO DE EMISSÃO DE METANO ENTÉRICO DE VACAS LEITEIRAS..	16
1. INTRODUÇÃO	19
2. MATERIAL E MÉTODOS	21
2.1 Conjunto de dados.....	21
2.2 Comparação de métodos para quantificar a emissão de metano entérico	22
2.3 Fatores que afetam a intensidade de emissão de metano entérico	23
2.4 Desenvolvimento de modelos de predição da produção de metano entérico...	24
2.5 Avaliação dos modelos de predição da produção de metano entérico	25
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
3.1 Conjunto de dados.....	26
3.2 Comparação de métodos para quantificar emissão de metano entérico.....	26
3.3 Fatores que afetam a produção de metano entérico	27
3.4 Modelo teórico da intensidade da produção de metano entérico	28
3.5 Modelos empíricos de predição da produção de metano entérico	29
4. CONCLUSÕES E IMPLICAÇÕES.....	31
5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	32
ANEXO I.....	52
ANEXO II	64

1. INTRODUÇÃO GERAL

O metano (CH_4) é um dos principais gases do efeito estufa, juntamente com o dióxido de carbono (CO_2) e o óxido nitroso (N_2O) (Lashof e Ahuja 1990). O CH_4 tem potencial de aquecimento global 25 vezes maior do que o CO_2 (IPCC ,2006). As principais fontes de produção metano são: lavouras de arroz cultivadas por irrigação inundação, fermentação entérica, mineração de carvão, queima da biomassa, aterros e oceanos (Milich, 1999).

O CH_4 em ruminantes é um produto do processo de fermentação entérica, principalmente ruminal e é eliminado majoritariamente através da eructação e respiração. A emissão de CH_4 representa perda de energia ingerida para o animal (2 a 12%) e são relacionadas à composição da dieta, nível de ingestão e outros fatores (Johnson e Johnson, 1995). Além disso, a emissão de metano entérico (EME) por ruminantes de produção contribui para a emissão de gases de efeito estufa. As emissões globais de CH_4 antropogênica são responsáveis por 16% de toda emissão de gases de efeito estufa (EPA, 2017). A EME por ruminantes correspondem por 17% das emissão de CH_4 no mundo (Knapp et al., 2014). Desta forma, a EME por ruminantes correspondem por apenas 2,7 % das emissão de gases de efeito estufa no mundo. Todavia, esta ainda é considerado uma importante fonte de emissão de gases de efeito estufa (FAO, 2016).

Apesar da EME ser uma fonte de perdas de energia para o animal e contribuir para o efeito estufa, não é possível eliminar a produção de metano produzido pelos ruminantes, pois sua produção viabiliza o funcionamento do rúmen por servir como principal via de dreno de hidrogênio (Johnson e Johnson, 1995). Contudo, desenvolver estratégias que reduzem a intensidade da produção de CH_4 entérico (exemplo metano/kg de leite) pode representar uma alternativa viável para reduzir o impacto ambiental da produção de ruminantes. Assim, é importante compreender e prever os fatores que afetam a intensidade da produção de CH_4 entérico.

Nós propomos um modelo teórico explicativo, em que a intensidade da produção de CH₄ entérico (g CH₄/ kg de leite produzido) representa o rendimento da produção CH₄ entérico (g CH₄/kg matéria seca (MS) ingerida) com a conversão alimentar. Nossa primeira hipótese é que a conversão alimentar representa maior impacto na intensidade da produção de CH₄ entérico, do que o rendimento da produção de CH₄ entérico (g CH₄/kg MS ingerida).

Modelos para a predição da produção de CH₄ entérico foram desenvolvidos desde a década de 1960 (Blaxter and Clappertom, 1965; IPCC, 2006; Santiago-Juarez et al. 2016), com base em variáveis preditoras associadas ao consumo de MS e à dieta, o que pode dificultar sua adoção, já que são variáveis de difícil mensuração, nos sistema de produção de leite. A produção de CH₄ entérico tem alta correlação com o consumo de MS (Santiago-Juarez et al., 2016). Como o peso corporal (PC) e a produção de leite apresentam correlação com o consumo de MS (Souza et al., 2014), nossa segunda hipótese é que modelos de predição da produção de CH₄ entérico que utilizam somente variáveis preditoras associadas ao animal (PC e produção de leite) apresentam acurácia e precisão semelhantes aos modelos mais completos, que utilizam variáveis preditoras associadas à dieta. Se essa hipótese for confirmada, os modelos desenvolvidos poderão representar nova abordagem para a predição da produção de CH₄ entérico com variáveis de fácil obtenção nas fazendas leiteiras. Assim, nossos objetivos foram: 1) elucidar os fatores que afetam a intensidade da produção de metano entérico; 2) desenvolver modelos para prever a produção de CH₄ entérico em vacas leiteiras, usando características associadas aos animais como variáveis preditivas e comparar com o modelos de variáveis preditoras com dietas; e 3) avaliar a qualidade da predição dos modelos propostos com os modelos existentes para prever a produção de CH₄ entérico utilizando um conjunto de dados independente.

O artigo no capítulo I foi formatado conforme as normas do periódico “Global Environmental Change”.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importância do metano

A produção de ácidos graxos voláteis (AGVs) ocorre através do processo de fermentação dos nutrientes pela microbiota (bactérias, protozoários e fungos). O acetato, propionato e butirato são os principais AGVs utilizados como fonte de energia pelo animal. Também ocorre a produção dos gases (CO₂ e CH₄) durante a fermentação, estes são eliminados principalmente através da eructação (Martin et al., 2010). O rúmen produz em torno de 87 a 90% de metano entérico, sendo o restante é produzido no intestino grosso. Do metano produzido no rúmen, 95% é excretado por eructação, e o produzido no trato digestivo posterior, 89% é excretado por meio da respiração e 11% por via retal (Murray et al., 1976).

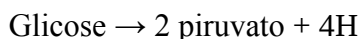
A fermentação é um processo oxidativo, que gera os cofatores reduzidos (NADH, NADPH e FADH₂), os cofatores são re-oxidados (NAD⁺, NADP⁺ e FAD⁺) através de reações de desidrogenação que liberam hidrogênio no rúmen. A metanogênese atua comoceptor de elétrons, desta forma remove o gás hidrogênio (H₂) do meio. As *Archaea* metanogênicas são responsável pelo processo de metanogênese, elas são consideradas um grupo microbiano distinto de Eubacteria. As metanogênicas obtêm energia para seu crescimento ao utilizar H₂ para reduzir CO₂ em CH₄, conforme a seguinte equação: $\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$. A produção de CH₄ é fundamental para não paralisar o processo fermentativo, porque evita o acúmulo de H₂ no rúmen, o que poderia inibir a atividade da desidrogenase (Martin et al., 2010). A baixa concentração de H₂ no rúmen por causa da formação de CH₄ promove o crescimento de outras espécies de bactérias, o que torna a fermentação mais eficiente (Cottle et al., 2011).

As *Archaea* no rúmen estão associadas aos protozoários ciliados e justapostas com bactérias (Zotti e Paulino, 2009). As principais espécies metanogênicas encontradas no rúmen e no intestino são *Methanobrevibacter sp.*, *Methanomicrobium sp.*, *Methanosarcina sp.* e *Methanobacterium sp.* (Arcuri

et al., 2011). As metanogênicas utilizam hidrogênio, formato, metanol, acetato e mono-, di-e tri-metilamina como substratos para produção de metano. O hidrogênio contribui com 80% da produção e o formato com apenas 18% (Hungate et al., 1970).

A disponibilidade de hidrogênio livre no rúmen depende do tipo de carboidrato fermentado (Figura 1) (Moos et al., 2000). A fermentação de carboidratos fibrosos favorece a metanogênese, devido à produção de acetato e butirato, e a rota metabólica destes libera o H₂ no meio. Enquanto que a fermentação de carboidratos não fibrosos produz mais propionato em relação aos demais AGVs, e a rota metabólica deste consome H₂ do meio, assim diminui a disponibilidade de H₂ para a metanogênese (Hegarty, 2001). Então, a concentração e proporções relativas dos AGVs produzidos durante a fermentação afetam a produção de CH₄ (Owens e Goetsch, 1988; Eun et al., 2004; Martin et al., 2010).

Reações de produção de hidrogênio:



Reações de utilização de hidrogênio:

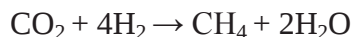
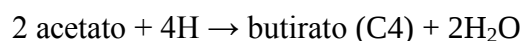


Figura 1. Reações de produção e utilização de hidrogênio (Moos et al., 2000).

2.2 Métodos utilizados para quantificar a produção de metano

Câmara respirométrica

A câmara respirométrica é considerada como método padrão para mensurar a emissão de metano entérico. A mensuração do fluxo de ar pelo sistema e a diferença de concentração entre o ar inspirado e expirado pelo animal permite determinar a emissão de metano (Johnson e Johnson, 1995). Existem dois sistemas de circuito para as câmaras respirométricas, o circuito fechado ou aberto, sendo o mais utilizado o circuito aberto (McLean e Tobin, 1987). Nas câmaras com circuito aberto tem um sistema de vedação, desta maneira só ocorrem trocas gasosas entre o meio interno e externo através do sistema de circulação de ar. Portanto, a renovação do ar ocorre por causa da pressão negativa gerada por uma bomba fixada na tubulação do ar, que retira o ar interior (oxigênio (O_2), dióxido de carbono (CO_2) e CH_4), e permite a entrada do ar externo (O_2 e CO_2). Este fluxo de ar é mensurado através de um equipamento automatizado que canaliza uma alíquota de ar com intuito de analisar as diferenças nas concentrações de O_2 , CO_2 e CH_4 que entra e sai da câmara, sendo que a leitura de alíquotas de ar é realizada por um período de tempo determinado (Rodríguez et al., 2007). A vantagem deste método é a precisão na mensuração da emissão de CH_4 pelo animal, pois este quantifica a emissão total de metano entérico. Contudo, apresenta um custo elevado para sua construção e manutenção; à limitação do movimento dos animais; e a restrição ao número de animais avaliados simultaneamente (Johnson e Johnson, 1995).

Método do gás traçador

O método do gás traçador foi desenvolvido para quantificar a emissão de CH_4 por ruminantes em diferentes sistemas de produção, porém é principalmente utilizado em animais sob pastejo (Woodward et al., 2006; Johnson et al., 2007). Neste método utiliza uma pequena cápsula de permeação contendo hexafluoreto de enxofre (SF_6), que é inserida no rúmen com uma taxa de liberação

conhecida. Os gases eructados pelo animal são coletados por meio de tubo capilar adaptado a um cabresto, este tubo é colocado na narina. O tubo capilar está conectado a uma canga (tubo de PVC) que contém uma bomba de vácuo. Quando a válvula é aberta gera um vácuo interno na canga, assim ocorre uma sucção constante dos gases eructados. Após 24 horas é realizada a cromatografia gasosa para determinar as concentrações de CH_4 e SF_6 . A quantidade de CH_4 eliminado por animal é calculado a partir da taxa de liberação conhecida de SF_6 no rúmen e das concentrações de CH_4 e SF_6 nas amostras de gás medidas (Johnson e Johnson, 1995).

Greenfeed®

O Greenfeed® foi desenvolvido pela empresa norte-americana C-Lock, é um cocho automatizado, cuja sua função é mensurar a emissão de CH_4 e CO_2 dos animais durante a alimentação. Quando o animal coloca a cabeça no cocho, o equipamento reconhece o animal através do brinco eletrônico. Ao mesmo tempo, um exaustor aspira o ar exalado pela narina e boca do animal. Durante esse período o equipamento mensura a cada segundo os gases emitidos e os dados são armazenados em um computador acoplado. O Greenfeed® consegue mensurar individualmente a emissão de gases de efeito estufa de vários animais (Rosso, 2014).

Máscara facial

Máscaras faciais são alternativa de baixo custo e simples para estimar as emissões de CH_4 em comparação com as técnicas mais convencionais de inventário propósitos e para avaliar os efeitos das estratégias de mitigação. As mensuração de curto prazo (30 minuto) utilizando este método geraram estimativas de CH_4 comparáveis às obtidas com os métodos câmara respirométrica e SF_6 . A realização de uma mensuração por dia pode reduzir a duração do estresse a que os animais são submetidos, com alteração mínima na ingestão de água e alimento (Oss et al., 2016).

Capuz ventilado

Este método utiliza uma caixa hermética que envolve a cabeça do animal. Para reduzir o vazamento de ar pode ser colocada uma manga ou drapeia em torno do pescoço do animal. A caixa tem um tamanho satisfatório para que o animal consiga mover sua cabeça e também permite o acesso à alimentação. A vantagem do capuz ventilado é o custo baixo, contudo é incapaz de mensurar toda a emissão CH_4 produzida no intestino grosso (Bhatta & Kurihara, 2007).

2.3 Modelos de predição de emissão de metano entérico para vacas leiteiras

Os modelos matemáticos são uma alternativa para quantificar a EME (g/d) de vacas leiteiras, uma vez que os métodos que mensuram a produção de CH_4 em animais requer a utilização de equipamento complexo e de custo elevado (Kebreab et al., 2006a). Desde a década de 1960 foram desenvolvidos diversos modelos de predição da EME. Atualmente existem mais de 40 modelos disponíveis para quantificar a EME de vacas leiteiras. Os modelos são de base empírica, o que indica que a capacidade preditiva depende do tamanho e variabilidade do conjunto de dados utilizados no desenvolvimento dos modelos. Além disso, em vários modelos são necessários uso de variáveis que não são rotineiramente mensuradas em fazendas leiteiras (Santiago-Juarez et al., 2016).

Recentemente Appuhamy et al. (2016) avaliaram a qualidade de predição de 40 modelos de EME (g/d) para vacas leiteiras (Tabela 1), e recomendaram os seguintes modelos: Nielsen et al. (2013) modelo VI, Yan et al. (2000) modelo I e IPCC Tier 2 (2006) para América do norte, Europa e Oceania, respectivamente. Os modelos utilizam variáveis preditoras associadas à dieta, o que como já mencionado, pode dificultar sua adoção. Assim, o desenvolvimento de modelos preditivos com variáveis de fácil mensuração nas fazendas leiteiras pode facilitar a adoção das equações para a predição de CH_4 na pecuária de leite.

Tabela 1. Modelos existentes para a predição de emissão de metano entérico CH₄ (EME; g/d) em vacas leiteiras

Models	Equation ¹
Moe and Tyrrell (1979)	$CH_4 = [3.41 + 0.511 \times NSC + 1.74 \times HC + 2.65 \times CEL] / 0.05565$
Kirchgeßner et al. (1995)	$CH_4 = 10.0 + 4.9 \times Milk + 1.5 BW^{0.75}$
IPCC (1997) Tier II	$CH_4 = [0.060 \times GEI] / 0.05565$
Yan et al. (2000) Model I	$CH_4 = [3.23 + 0.055 \times GEI] / 0.05565$
Model II	$CH_4 = [3.32 + 0.071 \times DEI] / 0.05565$
Corré (2002)	$CH_4 = [50.0 + 0.01 \times Milk \times 365] / 365 \times 1000$
Mills et al. (2003) Model I	$CH_4 = [5.93 + 0.92 \times DMI] / 0.05565$
Model II	$CH_4 = [56.27 - (56.27 + 0) \times e^{[-0.028 \times DMI]}] / 0.05565$
Model III	$CH_4 = [8.25 + 0.07 \times MEI] / 0.05565$
Model IV	$CH_4 = [45.98 - (45.98 + 0) \times e^{[-0.003 \times MEI]}] / 0.05565$
Model V	$CH_4 = [1.06 + 10.27 \times forageproportion + 0.87 \times DMI] / 0.05565$
IPCC (2006) Tier II	$CH_4 = [0.065 \times GEI] / 0.05565$
Ellis et al. (2007) Model I	$CH_4 = [3.23 + 0.809 \times DMI] / 0.05565$
Model II	$CH_4 = [3.14 + 2.11 \times NDFI] / 0.05565$
Model III	$CH_4 = [4.08 + 0.068 \times MEI] / 0.05565$
Model IV	$CH_4 = [1.21 + 0.059 \times MEI + 0.093 \times Forage] / 0.05565$
Model V	$CH_4 = [8.56 + 0.139 \times Forage] / 0.05565$
Model VI	$CH_4 = [2.16 + 0.493 \times DMI - 1.36 \times ADFI + 1.97 \times NDFI] / 0.05565$
Model VII	$CH_4 = [5.87 + 2.43 \times ADFI] / 0.05565$
Model VIII	$CH_4 = [1.64 + 0.396 \times MEI + 1.45 \times NDFI] / 0.05565$
Moate et al. (2011) Model I	$CH_4 = [24.51 - 0.0788 \times EE] \times DMI$
Model II	$CH_4 = [e^{(3.15 - 0.0035 \times EE)}] \times DMI$
Model III	$CH_4 = 2.54 + 19.14 \times DMI$
Nielsen et al. (2013) Model I	$CH_4 = [1.36 \times DMI - 0.125 \times FA - 0.02 \times CP + 0.017 \times NDF] / 0.05565$
Model II	$CH_4 = [1.23 \times DMI - 0.145 \times FA + 0.012 \times NDF] / 0.05565$
Model III	$CH_4 = [1.39 \times DMI - 0.091 \times FA] / 0.05565$
Model IV	$CH_4 = [1.26 \times DMI] / 0.05565$
Model V	$CH_4 = [738 \times DMI_{BW} - 0.145 \times FA + 0.013 \times NDF] / 0.05565$

Continuation..		
Ramin and Huhtanen (2013)	Model VI	$CH_4 = [1.23 \times DMI - 1.45 \times FA + 0.171 \times dNDF] / 0.05565^*$
	Model I	$CH_4 = [62 + 25 \times DMI] \times 16.0 / 22.4$
	Model II	$CH_4 = [20 + 35.8 \times DMI - 0.5 \times DMI^2] \times 16.0 / 22.4$
Storlien et al. (2014)	Model I	$CH_4 = [-1.47 + 1.28 \times DMI] / 0.05565$
	Model II	$CH_4 = [-2.76 + 3.74 \times NDFI] / 0.05565$
	Model III	$CH_4 = [6.80 + 1.09 \times DMI - 0.15 \times FA] / 0.05565$
Moraes et al. (2014)	Model I	$CH_4 = [3.247 + 0.043 \times GEI] / 0.05565$
	Model II	$CH_4 = [0.225 + 0.042 \times GEI + 0.125 \times NDF\% - 0.329 \times EE] / 0.05565$
	Model III	$CH_4 = [-9.311 + 0.042 \times GEI + 0.094 \times NDF\% - 0.381 \times EE + 0.008 \times BW + 1.621 \times mFat] / 0.05565$
Charmley et al. (2016)	Model I	$CH_4 = 38.0 + 19.22 \times DMI$
	Model II	$CH_4 = [2.14 + 0.058 \times GEI] / 0.05565$
Santiago-Juarez et al. (2016)	Model I	$CH_4 = [27.992 + 0.054 \times Diet\ NDF - 0.909 \times Diet\ ME - 0.295 \times Diet\ EE] / 0.05565$
	Model II	$CH_4 = [29.847 - 0.979 \times Diet\ ME] / 0.05565$
	Model III	$CH_4 = [3.911 + 0.128 \times MY + 1.274 \times MP + 2.166 \times MF] / 0.05565$
	Model IV	$CH_4 = [8.967 + 0.141 \times MY + 1.626 \times MP + 1.919 \times MF + 0.054 \times Diet\ NDF - 0.707 \times Diet\ ME] / 0.05565$
	Model V	$CH_4 = [11.496 + 0.134 \times MY + 1.514 \times MP + 1.952 \times MF - 0.726 \times Diet\ ME] / 0.05565$
	Model VI	$CH_4 = [-2.483 + 2.132 \times MF + 0.069 \times Diet\ NDF - 0.376 \times Diet\ ME - 0.185 \times Diet\ EE + 0.842 \times DMI] / 0.05565$
	Model VII	$CH_4 = [-2.639 + 2.149 \times MF + 0.068 \times Diet\ NDF - 0.406 \times Diet\ ME + 0.840 \times DMI] / 0.05565$
	Model VIII	$CH_4 = [-6.123 + 2.342 \times MF - 0.573 \times MP + 0.072 \times Diet\ NDF - 0.351 \times Diet\ ME - 0.232 \times Diet\ EE + 0.784 \times DMI + 0.009 \times BW] / 0.05565$
	Model IX	$CH_4 = [-7.381 + 2.249 \times MF + 0.071 \times Diet\ NDF - 0.407 \times Diet\ ME + 0.787 \times DMI + 0.009 \times BW] / 0.05565$
	Model X	$CH_4 = [-5.124 + 2.300 \times MF + 0.840 \times DMI] / 0.05565$
	Model XI	$CH_4 = [4.544 + 0.773 \times DMI] / 0.05565$

¹NSC = non-structural carbohydrate intake (kg/d), HC = hemicellulose intake (kg/d), CEL = cellulose intake (kg/d), MY = milk yield (kg/d), BW = body weight (kg), GEI = gross energy intake (MJ/d), DEI = digestible energy intake (MJ/d), DMI = dry matter intake (kg/d), MEI = metabolizable energy intake (MJ/d), NDFI = dietary neutral detergent fiber (NDF) intake (kg/d), Forage = dietary forage (% of DM), ADFI = dietary acid detergent fiber intake (kg/d), CP = dietary crude protein content (% of DM), NDF = dietary NDF content (g/kg DM), dNDF = dietary apparent total tract digestible NDF content (g/kg DM), NDF% = dietary NDF content (% of DM), EE = dietary ether extract content (% of DM), FA = dietary fatty acid content (g/kg DM), mFat = milk fat percentage MF = milk fat (%), and MP = milk protein (%).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APPUHAMY, J.A., FRANCE, J., KEBREAB, E., 2016. Models for predicting enteric methane emissions from dairy cows in North America, Europe, and Australia and New Zealand. **Glob Chang Biol** 22, 3039-3056.
- ARCURI, P.B.; LOPES, F.C.F.; CARNEIRO, J.C. Microbiologia do rúmen. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes**. 2^a ed. Jaboticabal: Funep, 2011. p.111-140.
- BHATTA , O.E.R., KURIHARA, M., 2007. Measurement of Methane Production from Ruminants. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences** 20:8, 5.
- BLAXTER, K.L., CLAPPERTON, J.L., 1965. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. **Br J Nutr**, England, pp. 511-522.
- CHARMLEY, E., WILLIAMS, S., MOATE, P., HEGARTY, R., HERD, R., ODDY, V., REYENGA, P., STAUNTON, K., ANDERSON, A., HANNAH, M., 2016. A universal equation to predict methane production of forage-fed cattle in Australia. **Animal Production Science** 56, 169-180.
- CORRÉ, W., 2002. Agricultural land use and emissions of methane and nitrous oxide in Europe. **Plant Research International**, Wageningen, The Netherlands.
- COTTLE, D., Nolan, J., Wiedemann, S.G., 2011. Ruminant enteric methane mitigation: A review.
- ELLIS, J.L., BANNINK, A., FRANCE, J., KEBREAB, E., DIJKSTRA, J., 2010. Evaluation of enteric methane prediction equations for dairy cows used in whole farm models. **Global Change Biology** 16, 11.
- 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. **J Dairy Sci**, United States, pp. 3456-3466.

- EUN, J.S., FELLNER, V., GUMPERTZ, M.L., 2004. Methane production by mixed ruminal cultures incubated in dual-flow fermentors. **J Dairy Sci**, United States, pp. 112-121.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO) 2016. **Reducing Enteric Methane for improving food security and livelihoods**. Disponível em: <http://www.fao.org/in-action/enteric-methane/background/why-is-enteric-methane-important/en/>. Acesso em: 5/12/2017.
- 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.
- HIPPENSTIEL, F., PRIES, M., BUSCHER, W., SUDEKUM, K.H., 2013. Comparative evaluation of equations predicting methane production of dairy cattle from feed characteristics. **Arch Anim Nutr** 67, 279-288.
- HOOK, S.E., WRIGHT, A.D., MCBRIDE, B.W., 2010. Methanogens: methane producers of the rumen and mitigation strategies. *Archaea* 2010, 945785.
- HUNGATE, R.E., SMITH, W., BAUCHOP, T., YU, I., RABINOWITZ, J.C., 1970. Formate as an Intermediate in the Bovine Rumen Fermentation. *J Bacteriol* 102, 389-397
- INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). 1997 **Guidelines for national greenhouse gas inventories**.
- INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). 2006 **Guidelines for national greenhouse gas inventories**.
- JOHNSON, K.A., JOHNSON, D.E., 1995. Methane emissions from cattle. **J Anim Sci** 73, 2483-2492.
- JOHNSON, K.A.; WESTBERG, H.H.; MICHAL, J.J.; COSSALMAN, M.W. The SF6 Tracer Technique: Methane measurement from ruminants. In: MAKKAR, H. P. S.; VERCOE, P. E. **Measuring Methane production from ruminants**, Dordrecht, The Netherlands:

- Springer, 2007. cap. 3.
- KEBREAB, E., CLARK, K., WAGNER-RIDDLE, C., FRANCE, J., 2006. Methane and nitrous oxide emissions from Canadian animal agriculture: A review. **Canadian Journal of Animal Science** 86, 135-157.
- KEBREAB, E., FRANCE, J., MCBRIDE, B.W., ODONGO, N.E., BANNINK, A., MILLS, J.A., DIJKSTRA, J., 2006b. Evaluation of models to predict methane emissions from enteric fermentation in North American dairy cattle. **Nutrient Utilization in Farm Animals: Modelling Approach**. CAB International, Wallingford, UK.
- KEBREAB, E., JOHNSON, K.A., ARCHIBEQUE, S.L., PAPE, D., WIRTH, T., 2008. Model for estimating enteric methane emissions from United States dairy and feedlot cattle. **J Anim Sci** 86, 2738-2748.
- KIRCHGEßNER, M., WINDISCH, W., MÜLLER, H.L., 1995. Nutritional factors affecting methane production by ruminants, in *Ruminant physiology* Stuttgart.
- KNAPP, J., LAUR, G., VADAS, P., WEISS, W., TRICARICO, J., 2014. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. **Journal of Dairy Science** 97, 3231-3261.
- KURIHARA, M., MAGNER, T., HUNTER, R.A., MCCRABB, G.J., 1999. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. **Br J Nutr**, England, pp. 227-234.
- LASHOF, D.A., AHUJA, D.R., 1990. Relative contributions of greenhouse gas emissions to global warming. *Nature* 344, 529.
- MARTIN, C., MORGAVI, D.P., DOREAU, M., 2010. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. **Animal**, England, pp. 351-365.
- MCLEAN, J.A., TOBIN, G., 1987. *Animal and Human Calorimetry*. Cambridge University Press.

- MILICH, L., 1999. The role of methane in global warming: where might mitigation strategies be focused? **Global Environmental Change** 9, 179-201.
- MILLS, J., KEBREAB, E., YATES, C., CROMPTON, L., CAMMELL, S., DHANOA, M., AGNEW, R., FRANCE, J., 2003. Alternative approaches to predicting methane emissions from dairy cows. **Journal of Animal Science** 81, 3141-3150.
- MOATE, P., WILLIAMS, S., GRAINGER, C., HANNAH, M., PONNAMPALAM, E., ECKARD, R., 2011. Influence of cold-pressed canola, brewers grains and hominy meal as dietary supplements suitable for reducing enteric methane emissions from lactating dairy cows. **Animal Feed Science and Technology** 166, 254-264.
- MOE, P.W., TYRRELL, H.F., 1979. Methane Production in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science** 62, 1583-1586.
- MORAES, L.E., STRATHE, A.B., FADEL, J.G., CASPER, D.P., KEBREAB, E., 2014. Prediction of enteric methane emissions from cattle. **Global change biology** 20, 2140-2148.
- MOSS, A.R., JOUANY, J.-P., NEWBOLD, J., 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. **Ann. Zootech.** 49, 231-253.
- MURRAY, R.M., BRYANT, A.M., LENG, R.A., 1976. Rates of production of methane in the rumen and large intestine of sheep. **Br J Nutr** 36, 1-14.
- NIELSEN, N., VOLDEN, H., ÅKERLIND, M., BRASK, M., HELLWING, A.L.F., STORLIEN, T., BERTILSSON, J., 2013. A prediction equation for enteric methane emission from dairy cows for use in NorFor. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A-Animal Science* 63, 126-130.
- OSS, D.B., MARCONDES, M.I., MACHADO, F.S., PEREIRA, L.G.R., TOMICH, T.R., RIBEIRO, G.O., CHIZZOTTI, M.L., FERREIRA, A.L., CAMPOS, M.M., MAURÍCIO, R.M., CHAVES, A.V., MCALLISTER, T.A., 2016. An evaluation of the face mask

- system based on short-term measurements compared with the sulfur hexafluoride (SF₆) tracer, and respiration chamber techniques for measuring CH₄ emissions. **Animal Feed Science and Technology** 216, 49-57.
- OWENS, F.N., GOETSCH, A.L., 1988. Ruminal fermentation. **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**, Waveland Press.
- RAMIN, M., HUHTANEN, P., 2013. Development of equations for predicting methane emissions from ruminants. **Journal of Dairy Science** 96, 2476-2493.
- RODRÍGUEZ, N.M., CAMPOS, W.E., LACHICA, M.L., BORGES, I., GONÇALVES, L.C., BORGES, A.L.C.C., SALIBA, E.O.S., 2007. A calorimetry system for metabolism trials. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 59, 6.
- ROSSO, G. 2014. **Cocho automatizado mede gases de efeito estufa na bovinocultura**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2361332/cocho-automatizado-mede-gases-de-efeito-estufa-na-bovinocultura>. Acesso: 05/01/2018.
- SANTIAGO-JUAREZ, B., MORAES, L.E., APPUHAMY, J.A.D.R.N., PELLIKAAN, W.F., CASPER, D.P., TRICARICO, J., KEBREAB, E., 2016. Prediction and evaluation of enteric methane emissions from lactating dairy cows using different levels of covariate information. **Animal Production Science** 56, 557-564.
- SOUZA, M.C., OLIVEIRA, A.S., ARAUJO, C.V., BRITO, A.F., TEIXEIRA, R.M., MOARES, E.H., MOURA, D.C., 2014. Short communication: Prediction of intake in dairy cows under tropical conditions. **J Dairy Sci.** 2014 American Dairy Science Association. Published by Elsevier Inc, United States, pp. 3845-3854.
- STORLIEN, T., VOLDEN, H., ALMØY, T., BEAUCHEMIN, K., MCALLISTER, T., HARSTAD, O., 2014. Prediction of enteric methane production from dairy cows. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A—Animal Science* 64, 98-109.
- TEDESCHI, L.O., 2006. Assessment of the adequacy of mathematical models. *Agricultural*

Systems 89, 225-247.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA) 2017. **Global Greenhouse Gas Emissions Data**. Disponível em: <https://www.epa.gov/ghgemissions/global-greenhouse-gas-emissions-data>. Acesso em : 7/12/2017.

WOODWARD, S.L., WAGHORN, G.C., THOMSON, N.A., 2006. Supplementing dairy cows with oils to improve performance and reduce methane – does it work? **New Zealand Society of Animal Production online archive**, 7.

YAN, T., AGNEW, R., GORDON, F., PORTER, M., 2000. Prediction of methane energy output in dairy and beef cattle offered grass silage-based diets. **Livestock Production Science** 64, 253-263.

ZOTTI, C.A., PAULINO, V.T., 2009. Metano na produção animal: Emissão e minimização de seu impacto **Instituto de Zootecnia**, 24.

CAPÍTULO 01

Predição de emissão de metano entérico de vacas leiteiras

Andrea Beltrani Donadia^a, André Soares de Oliveira^{a*}

^aDairy Cattle Research Laboratory, Universidade Federal de Mato Grosso - Campus Sinop, Sinop, Mato Grosso, Brazil, 78557-267.

*Corresponding author: andresoli@ufmt.br

Resumo

O metano entérico em ruminantes é um produto do processo de fermentação entérica, principalmente ruminal e é eliminado majoritariamente através da eructação. Uma meta-análise foi realizada como objetivo de elucidar os fatores que afetam a intensidade de CH₄ entérico e a produção de CH₄ entérico em vacas leiteiras, desenvolver modelos para prever a produção de CH₄ entérico em vacas leiteiras, usando apenas características associadas aos animais como variáveis preditivas e comparar com os modelos de variáveis preditoras com dietas; e avaliar a qualidade da predição dos modelos propostos com 43 modelos existentes para prever a produção de CH₄ entérico utilizando um conjunto de dados independente. O conjunto de dados foi composto por 115 artigos (419 médias de tratamentos oriundas de 125 experimentos) publicados em periódicos científicos. O conjunto de dados foi dividido aleatoriamente em dois sub-conjuntos. O primeiro subconjunto foi utilizado para a construção dos modelos para prever a produção de CH₄ entérico (80 artigos; 90 experimentos; 301 médias). E o segundo sub-conjunto foi utilizado para avaliação da acurácia e precisão da predição dos modelos propostos e existentes (35 artigos; 35 experimentos; 118 médias de tratamento). O conjunto de dados foi oriundo de 18 países, apresentou uma ampla variação nas características dos animais, dieta e emissão de metano. Câmara respirométrica, técnica do SF₆ e GreenFeed® foram os métodos utilizados para mensurar a produção de CH₄ entérico, intensidade da produção de CH₄ entérico e o rendimento da produção de CH₄ entérico. Não observamos diferenças nas médias de rendimento de

CH₄ entérico (19,9 ± 1,0 g metano/kg CMS; $P = 0,13$) e intensidade de CH₄ entérico (19,9 ± 1,0 g metano/kg CMS; $P = 0,13$) observadas nos estudos que utilizaram os métodos para quantificar a produção de CH₄ entérico. As variáveis relacionadas ao animal influenciaram mais a produção de CH₄ entérico do que as variáveis associadas com a dieta (90,18% versus 3,30% da variação total da produção de CH₄ entérico por vaca/dia). A conversão alimentar teve maior efeito na intensidade da produção de CH₄ entérico do que o rendimento da produção de CH₄ entérico (59,0% versus 39,6% da variação total da intensidade da produção de CH₄ entérico). Nos modelos Animal I (sem consumo de matéria seca (CMS)) e II (com CMS) foram utilizados a produção de leite e peso metabólico como variáveis preditoras. Os modelos Dieta I e II se ajustaram com teores de extrato etéreo e matéria orgânica digestível. Os modelos Animal + Dieta I e II foram ajustados com todas variáveis dos modelos Dieta e Animal. O modelo Animal I apresentou menor valor de coeficiente de correlação de concordância (CCC) e maior ($P < 0,05$) raiz quadrada do quadrado médio do erro da predição (RQMEP) em relação aos modelos Dieta II, Animal + Dieta I e II. O modelo Animal II, embora apresentou valor CCC semelhante aos modelos Dieta II, Animal + Diet I e II, a RQMEP foi maior ($P < 0,05$) do que esses modelos. Assim, os modelos de predição da produção de CH₄ entérico utilizando apenas variáveis do animal não apresentaram acurácia semelhante aos modelos com variáveis associadas à dieta e ao animal. Entre os seis modelos propostos, os modelos Animal + Dieta I, Animal + Dieta II e Dieta II foram o que apresentaram as melhores qualidades de predição. Os modelos II e III de Nielsen et al. (2013) e o Modelo III de Storlien et al. (2014) foram os modelos existentes mais semelhantes ao modelo Animal + Dieta I. Recomendamos o uso do modelo Animal + Dieta I ou Animal + Dieta II ou Dieta II para predição da produção de CH₄ entérico de vacas leiteiras. Esta pesquisa é parte de um projeto conduzido pelo Laboratório de Pesquisa em Pecuária de Leite da UFMT-Sinop, para desenvolver um novo sistema nutricional aplicada à bovinos de leite, *Nutrition System to Dairy Cattle* (NS-Dairy Cattle).

Palavras-chaves: gases do efeito estufa, modelo teórico, sistema nutricional

Abstract

Enteric methane (CH₄) in ruminants is a product of the enteric fermentation process, mainly ruminal, and is largely eliminated by eructation. A meta-analysis was performed to elucidate the factors affect enteric CH₄ intensity and enteric CH₄ production in dairy cows, to develop models to predict the production of enteric CH₄ in dairy cows, using only characteristics associated with animals as predictive variables and to compare with the models of predictor variables with diets; and to evaluate the prediction quality of the proposed models with 43 existing models to predict enteric CH₄ production using an independent data set. The data set consisted of 115 articles (419 average treatments of 125 experiments) published in scientific journals. The data set was randomly divided into two sub-sets. The first subset was used to construct the models to predict enteric CH₄ production (80 articles, 90 experiments, 301 means). And the second sub-set was used to evaluate the precision and accuracy of the prediction of proposed and existing models (35 articles, 35 experiments, 118 treatment means). The data set originated in 18 countries, showed a wide variation in the characteristics of the animals, diet and methane emission. Chamber, SF₆ technique and GreenFeed® were the methods used to measure enteric CH₄ production, intensity of enteric CH₄ production and yield of enteric CH₄ production. We did not observe differences in the means of enteral CH₄ yield (19.9 ± 1.0 g methane / kg CMS, $P = 0.13$) and intensity of enteric CH₄ (19.9 ± 1.0 g methane / kg DMI; $P = 0.13$) observed in studies using methods to quantify enteric CH₄ production. The variables related to the animal had a greater influence on the production of enteric CH₄ than the variables associated with the diet (90.18% versus 3.30% of the total change in enteric CH₄ production per cow/day). Feed conversion had a greater effect on the intensity of enteric CH₄ production than the yield of enteric CH₄ production (59.0% versus 39.6% of the total change in intensity of enteric CH₄ production). In the Animal I models (without dry matter intake (DMI)) and II (with DMI) milk production and metabolic weight were used

as predictor variables. The Diet I and II models were adjusted with ethereal extract contents and digestible organic matter. The Animal + Diet I and II models were adjusted with all variables of the Diet and Animal models. The animal model I presented the lowest correlation coefficient (CCC) and highest ($P < 0.05$) square root of the mean square of the prediction error (RMSEP) in relation to the Diet II, Animal + Diet I and II. The Animal II model, although presented a CCC similar to the Diet II, Animal + Diet I and II models, the RMSEP was higher ($P < 0.05$) than these models. Thus, the prediction models of enteric CH_4 production using only animal variables did not present similar accuracy to models with variables associated to diet and animal. Among the six models proposed, the Animal + Diet I, Animal + Diet II and Diet II models presented the best predictive qualities. The models II and III of Nielsen et al. (2013) and Model III of Storlien et al. (2014) were the most similar models to the Animal + Diet I model. We recommend using the Animal + Diet I or Animal + Diet II or Diet II model to predict enteric CH_4 production of dairy cows. This research is part of a project conducted by the UFMT-Sinop Dairy Cattle Research Laboratory to develop a new nutritional system applied to dairy cattle, the Nutrition System to Dairy Cattle (NS-Dairy Cattle).

Keywords: greenhouse gases, theoretical model, nutritional system

1. INTRODUÇÃO

O metano (CH_4) entérico em ruminantes é um produto do processo de fermentação, principalmente ruminal e é eliminado majoritariamente através da eructação e respiração. A emissão de CH_4 representa uma fonte de perda de energia digestível ingerida para o animal (2 a 12%), cujas perdas estão relacionadas com a composição da dieta, nível de ingestão e outros fatores (Johnson e Johnson, 1995). Além disso, a emissão de metano entérico (EME) por ruminantes de produção contribui na emissão de gases de efeito estufa. As emissões globais de CH_4 antropogênica são responsáveis por 16% de toda emissão de gases de efeito estufa (EPA, 2017). A EME por ruminantes correspondem por 17% das emissão de CH_4 no mundo (Knapp et al., 2014). Desta forma, a EME por ruminantes correspondem

101 por apenas 2.7 % das emissão de gases de efeito estufa no mundo. Todavia, a EME por ruminantes
102 ainda é considerado uma importante fonte de emissão de gases de efeito estufa (FAO, 2016).

103 Apesar da emissão de CH₄ ser uma fonte de perdas de energia para o animal e contribuir para o
104 efeito estufa, não é possível eliminar a produção de CH₄ produzido pelos ruminantes, pois sua
105 produção viabiliza o funcionamento do rúmen por servir como principal via de dreno de hidrogênio
106 (Johnson e Johnson, 1995). Porém, desenvolver estratégias que reduzem a intensidade da produção de
107 CH₄ entérico (exemplo metano/kg de leite) pode representar uma alternativa viável para reduzir o
108 impacto ambiental da produção de ruminantes. Assim, é importante compreender e prever os fatores
109 que afetam a intensidade da produção de CH₄ entérico.

110 Nós propomos um modelo teórico explicativo, em que a intensidade da produção de CH₄
111 entérico (g CH₄/ kg de leite produzido) representa o rendimento da produção CH₄ entérico (g CH₄/kg
112 MS ingerida) com a conversão alimentar. Nossa primeira hipótese é que a conversão alimentar
113 representa maior impacto na intensidade da produção de CH₄ entérico, do que o rendimento da
114 produção de CH₄ entérico (g CH₄/kg MS ingerida).

115 Os modelos de predição da produção de CH₄ entérico foram desenvolvidos desde a década de
116 1960 (Blaxter and Clappertom, 1965; IPCC, 2006; Santiago-Juarez et al. 2016) com base em variáveis
117 preditoras associadas ao consumo de MS e à dieta, o que pode dificultar sua adoção, já que são
118 variáveis de difícil mensuração, nos sistema de produção de leite. A produção de CH₄ entérico tem alta
119 correlação com o consumo de MS (Santiago-Juarez et al., 2016). Como o peso corporal (PC) e a
120 produção de leite apresentam correlação com o consumo de MS (Souza et al., 2014), nossa segunda
121 hipótese é que modelos de predição da produção de CH₄ entérico que utilizam somente variáveis
122 preditoras associadas ao animal (PC e produção de leite) apresentam acurácia e precisão semelhantes
123 aos modelos mais completos, que utilizam variáveis preditoras associadas à dieta. Se essa hipótese for
124 confirmada, os modelos desenvolvidos poderão representar nova abordagem para a predição da
125 produção de CH₄ entérico com variáveis de fácil obtenção nas fazendas leiteiras. Assim, nossos

126 objetivos foram: 1) elucidar os fatores que afetam a intensidade da produção de metano entérico; 2)
127 desenvolver modelos para prever a produção de CH₄ entérico em vacas leiteiras, usando
128 características associadas aos animais como variáveis preditivas e comparar com o modelos de
129 variáveis preditoras com dietas; e 3) avaliar a qualidade da predição dos modelos propostos com os
130 modelos existentes para prever a produção de CH₄ entérico utilizando um conjunto de dados
131 independente.

132

133 2. MATERIAL E MÉTODOS

134 2.1 Conjunto de dados

135 O conjunto de dados utilizado para construir e avaliar os modelos de predição da produção de
136 CH₄ entérico foi construído por busca de artigos completos publicados em periodicos, disponível no
137 sítio de busca Science Direct (<http://www.sciencedirect.com>). Foram encontrados inicialmente 225
138 artigos, utilizando-se as palavras-chave “dairy cows” e “methane”. Para gerenciar os artigos foi
139 utilizado o software EndNote® (Clarivate Analytics).

140 Os critérios de seleção dos estudos foram: 1) experimento conduzido com vacas em lactação; 2)
141 apresentassem o valor médio da emissão de metano entérico por tratamento e sua respectiva medida de
142 precisão da estimativa da média, tais como erro padrão da média, desvio padrão ou coeficiente de
143 variação; 3) artigos completos publicados em periódicos com fator de impacto divulgado no *Journal*
144 *Citation Reports*® (Thomson Reuters, Nova Iorque, EUA). O fluxograma sobre os critérios de
145 identificação, exclusão e inclusão dos artigos está descrito na Figura 1. O conjunto de dados final foi
146 composto por 115 artigos, com 125 experimentos e 419 médias de tratamentos contendo emissão de
147 metano entérico (Tabela 1). As informações completas estão disponíveis em um arquivo em Excel®,
148 on-line Supplementary File S1.

149

2.2 Comparação de métodos para quantificar a emissão de metano entérico

Como foram incluídos informações da produção de CH₄ entérico gerados pelos métodos de respirometria indireta, hexafluoreto de enxofre (SF₆) e Greenfeed®, foi avaliado os efeitos do método sobre a produção de CH₄ entérico. Como o método para quantificação da produção de CH₄ entérico por respirometria indireta é considerado padrão se os valores da produção de CH₄ (média e erro padrão da média) fossem divergentes aos obtidos por SF₆ e Greenfeed®, somente médias de tratamentos obtidas por respirometria indireta seriam usados para construção do modelos de predição. Caso contrário, no conjunto de dados completo incluiríamos estudos com todos os métodos para quantificação da EME (g/vaca/dia; g/kg CMS; e g/kg de leite). Assim, foi feito uma meta-análise utilizando modelo linear misto, variáveis do animal (peso corporal, produção, composição do leite e consumo de matéria seca), composição da dieta e EME (g/vaca/dia; g/kg CMS; e g/kg de leite) como variáveis dependentes, experimento como efeito aleatório e os métodos de quantificação da EME como efeito fixo (Littell et al., 2006):

$$Y = X\beta + Z\gamma + \varepsilon,$$

onde Y representa o vetor das variáveis dependentes (médias de tratamentos), β é um vetor desconhecido dos parâmetros de efeito fixo das características do animal e dieta associado a matriz conhecida X, γ é a vetor desconhecido do parâmetro de efeito aleatório do estudo associado a matriz conhecida Z, e ε representa o vetor do erro aleatório com distribuição normal (0, σ^2). Cada média de tratamento foi pesada usando o inverso do erro padrão da média.

Duas análises foram realizadas utilizando o conjunto de dados completo: análise de correlação de Person; e análise de componentes de variância (Littell et al., 2006), com o intuito de investigar os fatores associados ao animal (peso corporal, produção de leite, dias em lactação, gordura de leite e consumo de matéria seca) e dieta (proteína bruta, extrato etéreo, fibra em detergente neutro, amido e digestibilidade da matéria orgânica) que afetam a produção de CH₄ entérico. A análise de componentes

174 de variância foi feita utilizando um modelo linear misto, considerando o estudo como efeito aleatório e
175 os fatores associados ao animal e dieta como efeito fixo (Littell et al., 2006):

176
$$Y = X\beta + Z\gamma + \varepsilon,$$

177 onde Y representa o vetor da produção de CH₄ entérico observado, β é um vetor desconhecido
178 dos parâmetros de efeito fixo das características do animal e dieta associado a matriz conhecida X, γ é
179 a vetor desconhecido do parâmetro de efeito aleatório do estudo associado a matriz conhecida Z, e ε
180 representa o vetor do erro aleatório com distribuição normal (0, σ^2). Cada média de tratamento foi
181 ponderada usando o inverso do erro padrão da média.

182

183 **2.3 Fatores que afetam a intensidade de emissão de metano entérico**

184 O modelo teórico explicativo proposto da intensidade da produção de CH₄ entérico foi :
185 Intensidade de produção de CH₄ entérico (g CH₄ /kg de leite) = rendimento da produção de CH₄
186 entérico (g CH₄/kg CMS) × Conversão alimentar (kg CMS/kg leite produzido). Para investigar a
187 influência dos dois componentes acima sobre a intensidade da produção de CH₄ entérico, foi realizada
188 análise de componentes de variância (Littell et al., 2006), considerando estudo como efeito aleatório e o
189 rendimento da produção de CH₄ entérico e a conversão alimentar como efeito fixo, conforme o modelo:

190
$$Y = X\beta + Z\gamma + \varepsilon,$$

191 em que Y representa o vetor da intensidade de CH₄ observado, β é vetor desconhecido dos
192 parâmetros de efeito fixo das características rendimento de CH₄ e a conversão alimentar associado a
193 matriz conhecida X, γ é vetor desconhecido do parâmetro de efeito aleatório do estudo associado a
194 matriz conhecida Z, e ε representa o vetor do erro aleatório com distribuição normal (0, σ^2). Cada
195 média de tratamento foi ponderada usando o inverso do erro padrão da média. Em todas as análises
196 foram adotados nível de 5% de probabilidade para o erro tipo I. Além disso, observações com resíduos
197 estudentizados maiores que 2.5 ou inferiores a -2,5 foram excluídos do conjunto de dados completo.

198

2.4 Desenvolvimento de modelos de predição da produção de metano entérico

Os 115 artigos foram divididos aleatoriamente em dois sub-conjuntos. O primeiro subconjunto foi utilizado para a construção dos modelos, contendo 80 artigos (n = 301 médias de tratamento de produção de CH₄ entérico oriundas de 90 experimentos; Tabela 3; Apêndice 1; on-line Excel® Supplementary File S2). O segundo sub-conjunto foi utilizado para avaliação da acurácia e precisão da predição dos modelos, contendo 35 artigos (n = 118 médias de tratamento de produção de CH₄ entérico oriundas de 35 experimentos; Tabela 4; Apêndice 2; on-line Excel® Supplementary File S2). Assim, evitou-se que o mesmo estudo seja utilizado para construção e avaliação dos modelos, garantindo-se, portanto, a independência na avaliação da acurácia e precisão dos modelos.

Os modelos de predição da produção de CH₄ entérico foram desenvolvidos com vários níveis de informações de variáveis preditores: Animal I: utilizando somente variáveis preditores associada ao animal (peso corporal metabólico e produção de leite); Animal II: Animal I + CMS; Dieta I: utilizando somente variáveis preditores associada à dieta; Dieta II: Dieta I + CMS; Animal + Dieta I: sem CMS; Animal + Dieta II: com uso do CMS. Foram incluídos informações de emissão de metano a partir de ensaios de respirometria indireta, hexafluoreto de enxofre (SF₆) e Greenfeed®.

Variáveis preditoras como alta correlação ($r > 0.50$) não foram utilizadas conjuntamente no modelo para evitar o efeito de multicolinearidade e foram escolhidas aquelas que apresentaram maior correlação com a produção de CH₄ entérico.

Um modelo linear misto foi ajustado, considerando estudo como efeito aleatório e variáveis preditoras como efeito fixo (Littell et al., 2006):

$$Y = X\beta + Z\gamma + \varepsilon,$$

em que Y representa o vetor da produção de CH₄ entérico observado, β é um vetor desconhecido dos parâmetros de efeito fixo com a matriz conhecida X, γ é a vetor desconhecido do parâmetro de efeito aleatório com matriz conhecida Z, e ε representa o vetor do erro aleatório com distribuição normal (0, σ^2).

A contribuição de cada estudo foi ponderada à partir do inverso do erro padrão da média (Sauvant et al., 2008) da produção de CH₄ entérico. Foi utilizado nível de 5% de probabilidade para erro tipo I. Observações com resíduos estudentizados maiores que 2.5 ou inferiores a -2,5 foram excluídos do conjunto de dados para construção dos modelos.

2.5 Avaliação dos modelos de predição da produção de metano entérico

Avaliação da acurácia e precisão dos modelos propostos da produção de CH₄ entérico com os modelos existentes (Tabela 7) foram realizadas por meio da análise de regressão linear simples dos valores observados (Y) com os preditos (X), utilizando-se os procedimentos: análise gráfica dos valores observados versus preditos, o coeficiente de determinação, quadrado médio do erro de predição (QMEP), decomposição do QMEP em três fontes de erros (erro devido ao viés, erro devido à inclinação da regressão entre valores observados e preditos ser diferente de 1, e erro aleatório; (Bibby e Toutenburg, 1977), coeficiente de correlação de concordância – CCC (Lin, 1989) e sua decomposição em indicadores de precisão (ρ) e acurácia (Cb) (Lin, 1989; King e Chinchilli, 2001; Liao, 2003). Em caso de presença de erro de predição devido ao viés (intercepto da regressão entre valor observado *versus* predito diferente de zero), os parâmetros do intercepto dos modelos de predição propostos foram reparametrizados para anular a deste erro.

Para comparar a acurácia e precisão entre modelos propostos e os modelos existentes, foi calculada a raiz quadrada do QMEP, cujos valores foram expressos em g de MS/dia e em % do EME observado, e seu intervalo de confiança com erro tipo I de 5% (Vieira, 2017). Assim, em caso de congruência dos intervalos de confiança para raiz quadrada do QMEP entre modelos (Vieira, 2017), conclui-se que houve similaridade ($P > 0,05$) na acurácia e precisão entre os modelos. Observações com resíduos estudentizados do QMEP maiores que 1.5 ou inferiores a -1,5 foram excluídos do conjunto de dados para avaliação dos modelos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Conjunto de dados

O conjunto de dados construído foi oriundo de 18 países (Figura 2), e apresentou ampla variação nas características dos animais, dieta e de metano (Tabela 1). Os Estados Unidos da América foi o principal local de origem (17,60% dos dados), seguidos pelo Canadá (13,60%). O método para quantificar EME por respirometria indireta representou 51,78% dos dados, seguido por SF₆ (33,73%) e Greenfeed® (12,60%). Delineamentos experimentais do tipo rotativos foram adotados pela maioria dos estudos (58,10%) e *Holstein* foi principal grupo genético das vacas (85,37% das vacas). A dieta completa total foi o sistema de alimentação predominante (79,02%). Silagem e feno representaram as principais fontes de forragens, 59,05% e 16,22% das observações, respectivamente (Figura 2). Os dois subconjuntos (Tabela 3 e Tabela 4) apresentaram estatística descritivas semelhantes, indicando que a aleatorização dos dois subconjuntos foi adequada.

3.2 Comparação de métodos para quantificar emissão de metano entérico

A média da produção de CH₄ entérico por vaca nos estudos que utilizaram câmara respirométrica foi maior ($P < 0,05$) do que os estudos com SF₆, e foi semelhante ($P > 0,05$) aos que usaram GreenFeed® e outros métodos (Tabela 2). O erro padrão da média nas estimativas da produção de CH₄ entérico por vaca nos estudos que utilizaram câmara respirométrica foi menor ($P < 0,05$) do que os estudos com SF₆ e semelhante ($P > 0,05$) aos que usaram GreenFeed® e outros métodos (Tabela 2). Porém, as divergências na produção de CH₄ entérico por vaca (g/dia) e no erro padrão da média pode ter sido decorrente das diferenças no CMS e produção de leite entre os estudos. O método SF₆ é utilizado principalmente em animais a pasto (Johnson et al., 2007). Assim, quando avaliamos a intensidade da produção de CH₄ entérico ou o rendimento da produção de CH₄ entérico, não foram observamos ($P > 0,05$) diferenças entre métodos (Tabela 2). Assim, foram incluídos no conjunto de

dados estudos com todos os métodos para quantificação da produção de CH₄ entérico, intensidade da produção de CH₄ entérico e o rendimento da produção de CH₄ entérico.

3.3 Fatores que afetam a produção de metano entérico

As variáveis relacionadas ao animal influenciaram mais a produção de CH₄ entérico (90,18% da variação total) do que as variáveis associadas com a dieta (3,30% da variação total) (Figura 3a). O efeito aleatório de experimento somado ao resíduo representaram apenas 6,59% da variação total da produção de CH₄ entérico. Dentro de cada modelo foi avaliado a influência das variáveis preditoras. No modelo Animal I, a produção de leite influenciou mais a produção de CH₄ entérico do que as PC^{0,75} (Figura 3a). A produção de leite apresentou o coeficiente de correlação de 0,385 com a produção de CH₄ entérico e o PC^{0,75} de 0,358 (Tabela 5). No modelo Animal II, a produção de leite também foi a principal variável preditora, seguidos pelo CMS e PC^{0,75} (Figura 3a). Assim, em ambos os modelos, o PC^{0,75} foi a variável preditora de menor influência na produção de CH₄ entérico. Dentre as variáveis dietéticas, a digestibilidade da matéria orgânica da dieta foi a que mais influenciou a produção de CH₄ entérico (Tabela 5 Figura 3b), o que está associado a maior quantidade de material fermentado no rúmen e consequentemente a produção de metano com o aumento na digestibilidade da matéria orgânica da dieta. O teor de extrato etéreo apresentou correlação negativa com EME ($r = -0,104$, Tabela 5), e de menor intensidade que a digestibilidade da matéria orgânica ($r = 0,258$, Tabela 5). Não encontramos correlação significativa das variáveis dietéticas proteína bruta, fibra em detergente neutro, fibra em detergente ácido, carboidratos não fibrosos e teor de amido com a produção de CH₄ entérico (Tabela 5), e as mesmas não se ajustaram aos modelos empíricos desenvolvidos. A suplementação lipídica é estratégia nutricional comumente adotada para reduzir a EME e é influenciada pelo nível de inclusão, forma física e perfil de ácidos graxos da fonte lipídica (Beauchemin et al., 2007). Todavia, em nosso estudo o teor ou o consumo de extrato etéreo responderam por somente 4,79 e 12,23% da variação total na EME em vacas leiteiras (Figuras 3a, 3b), o que pode ser explicado pela limitação

analítica do extrato etéreo. Extrato etéreo representa um conceito analítico que engloba todas as frações solúveis em solventes orgânicos (exemplos: lipídeos, ceras, pigmentos). Assim, não há discriminação sobre frações lipídicas e não lipídicas, bem como a forma física e perfil de ácidos graxos, o que pode reduzir a capacidade preditiva da EME do teor e consumo de extrato etéreo.

3.4 Modelo teórico da intensidade da produção de metano entérico

O modelo teórico de intensidade da produção de CH₄ entérico (g CH₄/kg leite produzido) representa o produto do rendimento da produção de CH₄ entérico com a conversão alimentar. A conversão alimentar teve maior contribuição na variação da intensidade da produção de CH₄ entérico (59,04%) do que o rendimento da produção de CH₄ entérico (39,59%) (Figura 4a). A intensidade da produção de CH₄ entérico reduziu com o aumento da produção de leite de maneira quadrática ($P < 0,01$), sendo estimado valor mínimo de 11 g EME/kg de leite (Figura 4b) com produção de 42 kg de leite por dia. Este comportamento está de acordo com o descrito por Capper et al. (2007).

A alimentação de vacas leiteiras de alto rendimento com o intuito de maximizar a produção de leite geralmente resulta em dieta com alto teor de amido. A suplementação de amido rapidamente degradável ocasiona uma redução na proporção de acetato com propionato, consequentemente ocorre redução de CH₄ (Plaizier et al., 2008). Taxas de passagem elevadas e o aumento da concentração de hidrogênio resulta na queda do pH ruminal com o aumento da proporção de propionato no total de ácidos graxos voláteis (Janssen et al., 2010). O propionato é utilizado no fígado para produzir glicose, desta forma, maior será a disponibilidade de glicose para o animal. A glicose entre suas funções é utilizada na síntese de lactose (Valadares Filho e Pina, 2011).

Nós observamos que o rendimento da produção de CH₄ entérico apresentou baixa relação com o aumento na produção de leite ($R^2 = 0,037$; Figura 4c). Porém, a conversão alimentar (kg MS ingerida/kg de leite produzido) teve adequado ajustamento com a produção de leite ($R^2 = 0,74$; Figura

4d) e com comportamento semelhante à intensidade de CH₄ (Figura 4b), confirmando a nossa hipótese que a conversão alimentar tem maior efeito na intensidade de CH₄ do que no rendimento de CH₄. Assim, ações nutricionais ou não nutricionais que melhorem a conversão alimentar reduzem a intensidade da produção de CH₄ entérico e podem contribuir para a redução da pegada de carbono do leite.

3.5 Modelos empíricos de predição da produção de metano entérico

Os modelos de predição da produção de CH₄ entérico (g/vaca/dia) propostos estão descritos na Tabela 6. Os modelos Animal II, Dieta II, Animal + Dieta I e Animal + Dieta II apresentaram inicialmente erro de predição devido ao viés (intercepto da regressão entre valor observado *versus* predito diferente de zero). Portanto, os parâmetros do intercepto destes modelos foram reajustados para anular a presença desse erro. Os modelos Animal I (sem CMS) e II (com CMS) se ajustaram ($P < 0,05$) com uso da produção de leite e PC^{0.75} como variáveis preditoras. Os modelos Dieta I (sem CMS) e II (com CMS) se ajustaram ($P < 0,05$) com teores de extrato etéreo e matéria orgânica digestível da dieta. Os modelos Animal + Dieta (I e II) foram ajustados ($P < 0,05$) com todas variáveis dos modelos Dieta e Animal. Os modelos Animal I e Animal II apresentaram maior valor RQMEP ($P < 0,05$) em relação aos modelos Dieta II, Animal + Dieta I e Animal + Dieta II (Tabela 8; Figuras 5 e 6). Assim, nossa segunda hipótese de que modelos de predição da produção de CH₄ entérico (g/vaca/dia) utilizando apenas as variáveis animal apresentam acurácia semelhante aos modelos dietéticos não foi confirmada. A provável causa é que a associação das variáveis dieta e animal amplia a capacidade preditiva, uma vez que estes fatores em conjuntos responderam por 93,48% da variação total da produção de CH₄ entérico (Figura 3a). Além disso, como todas as variáveis associadas à dieta analisadas não apresentaram alta correlação ($r > 0,50$) com as variáveis associada ao animal (Tabela 5), não houve efeito de multicolinearidade, o que permite assim aumentar o poder predição dos modelos com a

348 incorporação das variáveis animal e dieta. O modelo Animal I e Animal II apresentaram valores
349 semelhantes de RQMEP (15,69 e 13,92% da produção de CH₄ entérico; $P > 0,05$; Tabela 8; Figura 6),
350 indicando que a incorporação de CMS como variável preditora nos modelos com variáveis associadas
351 ao animal não melhora a qualidade da predição da produção de CH₄ entérico (g/d). Este
352 comportamento era esperado em razão da elevada correlação do CMS com produção de leite ($r =$
353 $0,830$) e $PC^{0,75}$ ($r = 0,567$) (Tabela 5), impedindo assim ampliar a capacidade preditiva dos modelos
354 com uso concomitante do CMS, produção de leite e $PC^{0,75}$. (Tabela 8; Figura 6). Todavia, o modelo
355 Dieta II predizeu com RQMEP (10,38% da produção de CH₄ entérico observada) menor que modelo
356 Dieta I (14,15% da EME observada), indicando que o uso do CMS como variável preditora nos
357 modelos Dieta amplia consideravelmente a qualidade de predição. Este efeito provavelmente ocorreu
358 por duas razões: 1) relação positiva do CMS com a produção de CH₄ entérico (Tabela 5), devido ao
359 aumento no aporte de material fermentado e consequentemente a produção de metano com aumento no
360 CMS; 2) baixa correlação das variáveis preditoras dietéticas EE e digestibilidade da matéria orgânica
361 com o CMS ($r = 0,035$ e $-0,419$) observada no conjunto de dados (Tabela 5), indicando independência
362 entre as variáveis, permitindo a ocorrência do efeito aditivo do CMS sobre a predição da produção de
363 CH₄ entérico.

364 Entre os modelos propostos, os modelos Dieta II, Animal + Dieta I e Animal + Dieta II foram
365 os que apresentaram as melhores qualidades de predição e acurácia semelhante entre si (Tabela 8;
366 Figura 6). Os 43 modelos existentes predizeram com RQMEP de $25,95 \pm 9,09\%$ da produção de CH₄
367 entérico observada, enquanto que os seis modelos propostos com RQMEP de $10,77 \pm 9,72\%$ da
368 produção de CH₄ entérico observada. Identificamos que somente os modelos II e III de Nielsen et al.
369 (2013) e o Modelo III de Storlien et al. (2014) apresentaram RQMEP (14,26; 14,00 e 14,41% da
370 produção de CH₄ entérico observada) semelhantes ($P > 0,05$) ao modelo Animal + Dieta I (Figura 6).
371 Nielsen et al. (2013) desenvolveu seus modelos a partir de uma meta-análise contendo 12 artigos com
372 47 tratamentos. No modelo II de Nielsen et al. (2013) foram utilizados o CMS, o teor de ácidos graxos

373 e FDN dietéticos como variáveis preditoras, enquanto que no modelo III apenas o teor de ácidos
374 graxos e FDN dietéticos (Tabela 7). No modelo III de Storlien et al. (2014) foram utilizados o CMS e o
375 teor de ácidos graxos como variáveis preditoras (Tabela 7). Storlien et al. (2014) também desenvolveu
376 modelos a partir de meta-análise contendo 18 artigos publicados de 1997 a 2013 e mais três artigos não
377 publicados, com total de 78 tratamentos.

378

379 **4. CONCLUSÕES E IMPLICAÇÕES**

380 Um modelo teórico da intensidade da produção de CH₄ entérico (g CH₄/kg leite produzido) foi
381 proposto e representa o produto da EME por unidade de MS ingerida com a conversão alimentar.
382 Identificamos a magnitude de contribuição da conversão alimentar (59,04%) e do rendimento da
383 produção de CH₄ entérico (39,59%) para a variação na intensidade de emissão de CH₄. Assim, ações
384 nutricionais ou não nutricionais que melhorem a conversão alimentar
385 reduzem a intensidade da produção de CH₄ entérico e podem contribuir para a redução da pegada de
386 carbono do leite.

387 As variáveis relacionadas ao animal (produção de leite, PC^{0,75}) influenciam mais a produção de
388 CH₄ entérico diária em vacas leiteiras do que as variáveis associadas com a dieta. Todavia, modelos
389 empíricos com somente variáveis preditivas associadas aos animais apresentam menor qualidade de
390 predição do que os modelos que associam com variáveis dietéticas. A incorporação do CMS como
391 variável preditora em modelos com variáveis associadas ao animal não melhora a qualidade de
392 predição, mas amplia a acurácia e precisão em modelos com uso exclusivo de variáveis dietéticas. Os
393 modelos Dieta II, Animal + Dieta I e Animal + Dieta II apresentam a melhor qualidade da predição
394 da produção de CH₄ entérico em relação a todos os 43 modelos de predição existentes avaliados. Dos
395 modelos disponíveis na literatura, os II e III propostos por Nielsen et al. (2013) e o III de Storlien et
396 al. (2014) foram os que permitiram estimativas mais próximas ao modelo Animal + Dieta I. Assim,

397 recomendamos o uso do modelo Dieta II, Animal + Dieta I ou Animal + Dieta II para predição da
398 produção de CH₄ entérico em vacas leiteiras.

399

400 5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

401

402

403 BEAUCHEMIN, K. A., S. M. MCGINN, and H. V. PETIT. Methane abatement strategies for cattle:

404 Lipid supplementation of diets. **Canadian Journal of Animal Science**, v.87, p.431–440, 2007.

405 BIBBY, J., D., and H. TOUTENBURG. **Prediction and improved estimation in linear models.**

406 1977.

407 BLAXTER, K., CLAPPERTON, J. Prediction of the amount of methane produced by ruminants.

408 **British Journal of nutrition**, v.19, p.511-522, 1965.

409 CAPPER, J. L., R. A. CADY, and D. E. BAUMAN. The environmental impact of dairy production:

410 1944 compared with 2007. **Journal of Animal Science**, v.87, p.2160–2167, 2009.

411 CHARMLEY, E., WILLIAMS, S., MOATE, P., HEGARTY, R., HERD, R., ODDY, V., REYENGA,

412 P., STAUNTON, K., ANDERSON, A., HANNAH, M. A universal equation to predict methane

413 production of forage-fed cattle in Australia. **Animal Production Science**, v.56, p.169-180, 2016.

414 CORRÉ, W. Agricultural land use and emissions of methane and nitrous oxide in Europe. **Plant**

415 **Research International, Wageningen, The Netherlands**, 2002.

416 ELLIS, J.L., KEBREAB, E., ODONGO, N.E., MCBRIDE, B.W., OKINE, E.K., FRANCE, J.,

417 Prediction of methane production from dairy and beef cattle. **Journal of Dairy Science**, v.90

418 p.3456-3466, 2007.

419 FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO [2016].

420 **Reducing Enteric Methane for improving food security and livelihoods.** Disponível em:

421 <http://www.fao.org/in-action/enteric-methane/background/why-is-enteric-methane-important/en/>.

422 Acesso em: 7. Dez, 2017.

423 INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE - IPCC. **Guidelines for national**
 424 **greenhouse gas inventories.**1997.

425 INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE - IPCC. **Guidelines for national**
 426 **greenhouse gas inventories.** 2006.

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

430 JOHNSON, K.A., JOHNSON, D.E. Methane emissions from cattle. **Journal of animal science** v.73,
 431 p.2483-2492, 1995.

432 JOHNSON, K.A.; WESTBERG, H.H.; MICHAL, J.J.; COSSALMAN, M.W. The SF6 Tracer
 433 Technique: Methane measurement from ruminants. In: MAKKAR, H. P. S.; VERCOE, P. E.
 434 **Measuring Methane production from ruminants.** Springer, Dordrecht, 2007, p.33-37.

435 KING, T. S., AND V. M. CHINCHILLI. Robust estimator of the concordance correlation coefficient.
 436 **Journal of Biopharmaceutical Statistics.** v.11 p.83–105, 2001.

437 KIRCHGEßNER, M., WINDISCH, W., MÜLLER, H. L. **Nutritional factors affecting methane**
 438 **production by ruminants, in Ruminant physiology: Digestion, Metabolism, Growth and**
 439 **Reproduction.** edited by: Engelhardt, W. V., Leonhard-Mare, S., Breve, G., and Giesecke, D.,
 440 Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 1995, 333–343.

441 KNAPP, J., LAUR, G., VADAS, P., WEISS, W., TRICARICO, J. Invited review: Enteric methane in
 442 dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. **Journal of**
 443 **Dairy Science,** v.97, p.3231-3261, 2014.

444 LIAO, J. J. Z. An improved concordance correlation coefficient. **Pharmaceutical Statistics.** v.2 p.253–
 445 261. 2003.

446 LIN, L. I. K. 1989. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. **Biometrics.** v.45
 447 p.255-268.

448 LITTELL R. C. G. A., W. W. MILLIKEN, R. D. STROUP, WOLFINGER, R. D., AND O.
 449 SCHABENBERGER. **SAS for Mixed Models**. 2nd ed. SAS Institute, Cary, NC, 2006.

450 MILLS, J., KEBREAB, E., YATES, C., CROMPTON, L., CAMMELL, S., DHANOA, M., AGNEW,
 451 R., FRANCE, J. Alternative approaches to predicting methane emissions from dairy cows. **Journal**
 452 **of Animal Science**, v.81, p.3141-3150. 2003.

453 MOATE, P., WILLIAMS, S., GRAINGER, C., HANNAH, M., PONNAMPALAM, E., ECKARD, R.
 454 Influence of cold-pressed canola, brewers grains and hominy meal as dietary supplements suitable
 455 for reducing enteric methane emissions from lactating dairy cows. **Animal Feed Science and**
 456 **Technology**, v.166, p.254-264, 2011.

457 MORAES, L.E., STRATHE, A.B., FADEL, J.G., CASPER, D.P., KEBREAB, E. Prediction of enteric
 458 methane emissions from cattle. **Global change biology**, v.20, p.2140-2148, 2014.

459 NIELSEN, N., VOLDEN, H., ÅKERLIND, M., BRASK, M., HELLWING, A.L.F., STORLIEN, T.,
 460 BERTILSSON, J. A prediction equation for enteric methane emission from dairy cows for use in
 461 NorFor. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section A- Animal Science**, v.63, p.126-130, 2013.

462 PLAIZIER, J.C., KRAUSE, D.O., GOZHO, G.N., MCBRIDE, B.W., 2008. Subacute ruminal acidosis
 463 in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. **The Veterinary Journal**
 464 176, 21-31.

465 RAMIN, M., HUHTANEN, P. Development of equations for predicting methane emissions from
 466 ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.2476-2493, 2013.

467 SANTIAGO-JUAREZ, B., MORAES, L.E., APPUHAMY, J.A.D.R.N., PELLIKAAN, W.F.,
 468 CASPER, D.P., TRICARICO, J., KEBREAB, E. Prediction and evaluation of enteric methane
 469 emissions from lactating dairy cows using different levels of covariate information. **Animal**
 470 **Production Science** v.56, p.557-564, 2016.

471 SAUVANT, D., P. SCMIDELY, J. J. DAUDIN, AND N. R. ST-PIERRE. Meta-analyses of
 472 experimental data: application in animal nutrition. **Animal** v.2 p.1203-1214, 2008.

473 SMIRNOV, N. **Estimate of deviation between empirical distribution functions in two independent**
 474 **samples.** Moscow University Mathematics Bulletin, 1933. p.3–16.

475 SOUZA, M. C.; OLIVEIRA, A.S.; ARAÚJO, C. V.; BRITO, A. F. TEXEIRA, R. M. A.; MOARES, E.
 476 H. B. K.; MOURA, D.C. Short communication: Prediction of intake in dairy cows under tropical
 477 conditions. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.3845-3854, 2014.

478 STORLIEN, T., VOLDEN, H., ALMØY, T., BEAUCHEMIN, K., MCALLISTER, T., HARSTAD, O.
 479 Prediction of enteric methane production from dairy cows. **Acta Agriculturae Scandinavica,**
 480 **Section A—Animal Science** v.64, p.98-109, 2014.

481 UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - EPA [2017]. **Global**
 482 **Greenhouse Gas Emissions Data.** Disponível em: [https://www.epa.gov/ghgemissions/global-](https://www.epa.gov/ghgemissions/global-greenhouse-gas-emissions-data)
 483 [greenhouse-gas-emissions-data](https://www.epa.gov/ghgemissions/global-greenhouse-gas-emissions-data). Acesso em : 7. Dez, 2017.

484 VALADARES FILHO, S. C., PINA, D. S. Fermentação ruminal. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES,
 485 A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de ruminantes.** 2ª ed. Jaboticabal: Funep, 2011. p.151-182.

486 VIEIRA, F.J.G. **Fatores que afetam o consumo de matéria seca de vacas leiteiras.** 2017. 90f.
 487 Dissertação(Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal do Mato Grosso, Sinop.

488 YAN, T., AGNEW, R., GORDON, F., PORTER, M. Prediction of methane energy output in dairy and
 489 beef cattle offered grass silage-based diets. **Livestock Production Science** v.64, p.253-263, 2000b.

490 Table 1 - Descriptive statistics of the complete data sets used to predict enteric methane emission
 491 (EME; g/cow/day) from lactating dairy cows

Item	Mean	Median	Maximum	Minimum	SD	n^2
Animal						
Body weight (BW), kg	603.80	605.00	714.00	409.00	65.00	362
Milk yield (MY), kg/day	28.06	27.00	46.50	4.90	8.10	384
4%FCM, kg/day	31.78	32.30	42.60	16.90	5.67	71
Days in milk	118.74	104.00	302.40	31.00	58.63	360
Milk protein, g/kg	32.51	32.50	39.80	26.10	2.43	308
Milk fat, g/kg	39.94	40.20	53.80	25.90	5.04	322
Milk lactose, g/kg	47.00	46.80	52.70	40.10	2.05	268
Dry matter (DM) intake, kg/day	19.39	18.80	28.50	9.10	3.68	360
Diet ¹						
Forage in diet, g/kg DM	594.05	599.50	856.70	283.00	108.77	292
DM, g/kg	475.23	461.00	849.00	134.00	141.37	169
Organic matter (OM), g/kg DM	925.19	927.00	990.00	887.00	13.65	267
NDF diet, g/kg DM	355.00	348.00	603.00	37.00	61.26	292
Crude protein diet, g/kg DM	166.67	164.50	251.40	78.00	18.55	300
Ether extract, g/kg DM	39.53	36.00	84.00	19.70	14.31	198
Starch, g/kg DM	203.09	219.50	382.00	5.00	73.12	188
NFC, g/kg DM	412.85	416.00	486.00	261.00	42.41	65
DM digestibility, g/kg	692.44	694.00	798.00	492.00	46.80	151
OM digestibility, g/kg	718.95	713.00	836.00	520.00	50.07	177
TDN diet, g/kg DM	695.00	695.00	722.00	668.00	22.99	4
NE _L diet, MJ/kg DM	6.74	6.70	8.10	5.86	0.41	88
Methane						
Production, g/cow/day	385.65	386.46	748.80	36.00	98.51	419
Yield, g/kg DMI	20.31	20.21	40.00	1.45	4.47	360
Intensity, g/kg MY	14.78	14.30	39.96	1.00	5.00	382

492 ¹4% FCM = Fat corrected milk (kg/d); NDF = Neutral detergent fiber (g/kg DM); NFC = Non-fiber
 493 carbohydrates (g/kg DM); TDN = Total digestible nutrients (g/kg DM); NE_L = Energy net lactation
 494 (MJ/kg DM).

495 ² Treatment means from 125 studies in 115 papers (Appendix 1 and Table S1 Online Data
 496 Supplement).

497 Table 2 – Comparison of animal performance, diet and enteric methane emission (EME; g/cow/day)
 498 from studies with diferents method to quantify EME in lactating dairy cows

Item	Method ²				P-Value ³
	Chamber	SF6	GreenFeed	Other	
Animal					
Body weight (BW ^{0.75}), kg	128.98a± 1.11 (n = 188)	125.00b± 1.11 (n = 114)	131.46a ± 1.44 (n = 52)	134.16a ± 3.28 (n = 8)	<0.01
Milk yield, kg/day	31.82b±0.91 (n = 192)	29.63c±0.91 (n = 132)	35.46a±1.23 (n = 52)	33.12abc±2.81 (n = 8)	<0.01
Milk protein, g/kg	32.9a±0.19 (n =161)	31.99 ab±0.23 (n = 105)	32.0ac±0.38 (n = 40)	34.9ac±1.69 (n = 2)	<0.01
Milk fat, g/kg	39.9ab±0.58 (n = 169)	38.3a±0.61 (n = 111)	39.0ab±0.85 (n = 40)	43.0ab±3.52 (n = 2)	0.04
DMI, kg/day	21.1b±0.41 (n = 191)	20.8b±0.43 (n = 125)	23.4a±0.62 (n = 40)	23.3ab±1.72 (n = 4)	<0.01
Dry matter (DM), g/kg	511.0a±16.73 (n = 107)	355.9b±24.99 (n = 31)	504.1a±26.43 (n = 25)	550.1a±53.41 (n = 6)	<0.01
Diet ¹					
Forage in diet, g/kg DM	596.6a±12.33 (n = 178)	543.8b±14.92 (n = 64)	569.3ab±17.78 (n = 42)	623.8a±38.94 (n = 8)	<0.01
NDF, g/kg DM	346.5±7.32 (n = 163)	344.8±8.02 (n = 81)	344.1±10.35 (n = 42)	397.7±25.40 (n = 6)	0.23
Crude protein, g/kg DM	166.7±1.37 (n = 182)	165.7±2.25 (n = 68)	171.2±2.79 (n = 44)	159.0±7.56 (n = 6)	0.29
Ether extract, g/kg DM	42.6a±1.52 (n = 134)	36.1b±2.45 (n = 35)	34.2b±2.90 (n = 25)	28.0b±6.97 (n = 4)	<0.01
Starch, g/kg DM	192.0±9.11 (n = 113)	204.9±11.97 (n = 48)	211.6±16.77 (n = 23)	164.4±36.65 (n = 4)	0.42
NFC, g/kg DM	404.9b±7.44 (n = 31)	439.9a±9.89 (n = 17)	445.8a±11.52 (n = 15)	309.0c±24.07 (n = 2)	<0.01
OM digestibility, g/kg	709.8a±7.57 (n = 105)	674.0b±8.17 (n = 44)	691.9ab±10.70 (n = 26)	693.5ab±32.24 (n = 2)	<0.01
Methane					
Production, g/cow/day	445.3a ± 10.6 (n = 218)	406.0b ± 10.8 (n = 142)	470.0a ± 14.5 (n = 53)	458.0a ± 38.3 (n = 6)	<0.01
SEM, g/cow/day	22.3b ± 1.9 (n = 207)	27.6a ± 2.0 (n = 136)	22.3b ± 2.9 (n = 45)	13.4b ± 7.5 (n = 6)	0.03
Yield, g/kg DMI	21.2 ± 0.5 (n = 191)	20.2 ± 0.5 (n = 125)	20.5 ± 0.8 (n = 40)	17.9 ± 2.2 (n = 4)	0.13
Intensity, g/kg MY	14.5 ± 0.4 (n = 192)	15.4 ± 0.4 (n = 132)	14.4 ± 0.7 (n = 52)	13.5 ± 2.0 (n = 6)	0.38

¹NDF = Neutral detergent fiber (g/kg DM); NFC = Non-fiber carbohydrates (g/kg DM).

² Least squares means ± standard error (n = observations).

³ F-Test to EME method effect.

503 Table 3 - Descriptive statistics of the data sets used to develop the models to predict enteric methane
504 emission (EME; g/cow/day) from lactating dairy cows

Item	Mean	Median	Maximum	Minimum	SD	N2
Animal						
Body weight (BW), kg	603.80	605.00	714.00	409.00	63.40	270
Milk yield (MY), kg/day	27.92	27.00	46.50	4.90	7.89	273
4%FCM, kg/day	31.29	31.80	42.60	16.90	6.02	50
Days in milk	120.51	106.00	302.40	31.00	58.35	261
Milk protein, g/kg	32.66	32.50	39.80	26.10	2.44	216
Milk fat, g/kg	40.39	40.55	53.80	25.90	4.88	226
Milk lactose, g/kg	47.20	47.20	52.70	42.60	2.00	184
Dry matter (DM) intake, kg/day	19.27	18.80	28.20	9.10	3.32	255
Diet ¹						
Forage in diet, g/kg DM	600.17	600.00	856.70	283.00	114.21	215
DM, g/kg	477.85	468.50	894.00	134.00	149.75	134
Organic matter (OM), g/kg DM	924.40	926.00	990.00	887.00	13.85	190
NDF diet, g/kg DM	357.10	351.00	603.00	37.00	66.64	209
Crude protein diet, g/kg DM	166.37	164.00	251.40	78.00	19.77	217
Ether extract, g/kg DM	37.16	33.00	84.00	19.70	13.37	133
Starch, g/kg DM	205.56	221.00	382.00	22.00	72.11	141
NFC, g/kg DM	415.11	420.00	486.00	261.00	49.00	35
DM digestibility, g/kg	697.32	696.50	798.00	492.00	47.40	118
OM digestibility, g/kg	725.47	717.35	836.00	520.00	51.00	140
TDN diet, g/kg DM	695.00	695.00	722.00	668.00	22.99	4
NE _L diet, MJ/kg DM	6.79	6.51	8.10	6.28	0.57	24
Methane						
Production, g/cow/day	382.16	386.00	656.00	36.00	96.40	301
Yield, g/kg DMI	20.36	20.21	40.00	1.45	4.68	255
Intensity, g/kg MY	14.71	14.29	39.96	1.00	4.87	271

505 ¹4% FCM = Fat corrected milk (kg/d); NDF = Neutral detergent fiber (g/kg DM); NFC = Non-fiber
506 carbohydrates (g/kg DM); TDN = Total digestible nutrients (g/kg DM); NE_L = Energy net lactation
507 (MJ/kg DM).

508 ² Treatment means from 90 studies in 80 papers (Appendix 2 and Table S2 Online Data Supplement)

509 Table 4 - Descriptive statistics of the data sets used to evaluate the models to predict enteric methane
510 emission (EME; g/cow/day) from lactating dairy cows

Item	Mean	Median	Maximum	Minimum	SD	n^2
Animal						
Body weight (BW), kg	603.70	602.00	712.00	479.00	70.0	92
Milk yield (MY), kg/day	28.39	27.00	45.20	8.40	8.63	111
4%FCM, kg/day	32.95	33.80	42.40	23.90	4.65	21
Days in milk	114.09	103.50	247.0	38.00	59.41	99
Milk protein, g/kg	32.17	32.25	36.80	27.30	2.38	92
Milk fat, g/kg	38.86	38.55	52.40	26.70	5.28	96
Milk lactose, g/kg	46.57	46.20	52.00	40.10	2.11	84
Dry matter (DM) intake, kg/day	19.70	18.50	28.50	12.65	4.43	105
Diet ¹						
Forage in diet, g/kg DM	576.95	571.00	800.00	361.50	90.38	77
DM, g/kg	465.23	448.00	666.00	145.00	104.41	35
Organic matter (OM), g/kg DM	927.14	930.00	955.00	900.00	13.03	77
NDF diet, g/kg DM	349.70	344.00	441.00	273.00	44.86	83
Crude protein diet, g/kg DM	168.54	166.00	236.00	145.00	14.87	83
Ether extract, g/kg DM	44.39	42.00	80.00	21.00	15.04	65
Starch, g/kg DM	195.68	208.00	300.00	5.00	76.39	47
NFC, g/kg DM	410.20	414.50	474.00	321.00	33.77	30
DM digestibility, g/kg	675.00	670.00	745.00	584.00	40.63	33
OM digestibility, g/kg	694.27	691.00	760.00	620.00	37.71	37
TDN diet, g/kg DM	-	-	-	-	-	-
NE _L diet, MJ/kg DM	6.79	6.51	8.10	6.28	0.57	24
Methane						
Production, g/cow/day	394.58	392.32	748.80	190.86	103.59	118
Yield, g/kg DMI	20.20	20.19	32.83	7.85	3.94	105
Intensity, g/kg MY	14.97	14.30	35.48	5.48	5.33	111

511 ¹4% FCM = Fat corrected milk (kg/d); NDF = Neutral detergent fiber (g/kg DM); NFC = Non-fiber
512 carbohydrates (g/kg DM); TDN = Total digestible nutrients (g/kg DM); NE_L = Energy net lactation
513 (MJ/kg DM).

514 ² Treatment means from 35 studies in 35 papers (Appendix 3 and Table S3 Online Data Supplement).

515 Table 5. Pearson correlation coefficients for the relationships among predictive variables¹ and enteric methane emission (EME; g/cow/day)
 516 from lactating dairy cows in the full data set (n = 419)

Item ¹	BW ^{0.75}	MY	4%FCM	DIM	DMI	NDF	ADF	NFC	Starch	EE	CP	OMD	DMD
EME	0.358	0.385	0.429	0.019	0.466	-0.010	-0.004	-0.025	-0.078	-0.104	0.086	0.078	0.258
BW ^{0.75}		0.554	0.526	0.195	0.567	-0.134	0.056	-0.022	0.048	0.123	-0.256	-0.320	-0.164
MY			0.965	-0.295	0.830	-0.407	-0.067	0.520	0.308	0.160	-0.187	-0.416	-0.213
4%FCM				-0.402	0.841	-0.359	-0.058	0.477	0.222	0.088	-0.168	-0.309	-0.090
DIM					-0.101	0.235	0.227	-0.206	-0.231	0.050	0.010	-0.006	-0.198
DMI						-0.344	0.036	0.433	0.207	0.035	-0.154	-0.419	-0.212
NDF							0.645	-0.828	-0.434	-0.330	-0.104	0.369	0.239
ADF								-0.631	-0.614	-0.281	-0.136	0.277	-0.419
NFC									0.644	0.080	-0.332	0.091	0.128
Starch										-0.010	-0.233	-0.402	-0.346
EE											0.062	-0.397	-0.419
CP												0.253	0.273
OMD													0.990

517 ¹BW^{0.75} = metabolic body weight (kg); MY = Milk yield (kg/d); 4% FCM = Fat corrected milk (kg/d); DIM = Days in milk; DMI = Dry
 518 matter intake (kg/d); NDF = Neutral detergent fiber (g/kg DM); ADF = Acid detergent fiber (g/kg DM); NFC = Non-fiber carbohydrates
 519 (g/kg DM); EE= Ether extract (g/kg DM); CP =Crude protein diet (g/kg DM); OMD = Organic matter digestibility (g/kg); DMD = Dry
 520 matter digestibility (g/kg).

521 Table 6 – Models to predict enteric methane emission (EME; g/cow/day) from lactating dairy cows

Models	Equations ¹
Animal I (without DMI)	$EME = 123.29 (\pm 50.89) + 3.32 (\pm 0.76) \times MY + 1.49 (\pm 0.51) \times BW^{0.75}$; AIC = 2761.4
Animal II (with DMI)	$EME = 87.68 (\pm 61.61) + 2.52 (\pm 1.14) \times MY + 0.58 (\pm 0.56) \times BW^{0.75} + 8.25 (\pm 2.63) \times DMI$; AIC = 1.8 ³⁰⁸
Diet I (without DMI)	$EME = 550.21 (\pm 131.29) - 0.67 (\pm 0.56) \times EE - 0.09 (\pm 0.17) \times OMD$; AIC = 866.9
Diet II (with DMI)	$EME = 133.49 (\pm 43.62) - 0.03 (\pm 0.02) EE \times DMI + 0.02 (\pm 0.003) \times OMD \times DMI$; AIC = 778.8
Animal + Diet I (without DMI)	$EME = -58.23 (\pm 155.05) + 5.09 (\pm 1.26) \times MY + 2.87 (\pm 1.05) \times BW^{0.75} - 1.49 (\pm 0.50) \times EE + 0.05 (\pm 0.16) \times OMD$; AIC = 762.5
Animal + Diet II (with DMI)	$EME = -28.22 (\pm 113.15) + 1.74 (\pm 1.79) \times MY + 1.75 (\pm 1.06) \times BW^{0.75} - 0.05 (\pm 0.02) \times EE \times DMI - 0.015 (\pm 0.004) \times OMD \times DMI$; AIC = 770.2;

522 ¹MY = Milk yield (kg/d); $BW^{0.75}$ = metabolic body weight (kg); AIC = Akaike's information criteria; DMI = Dry matter intake (kg/d); EE =
523 Ether extract (g/kg DM); OMD = Organic matter digestibility (g/kg).
524

525 Table 7 – Models to predict enteric methane emission (EME; g/cow/day) from lactating dairy cows

Models	Equation ¹
Kirchgeßner et al. (1995)	$CH_4 = 10.0 + 4.9 \times \text{Milk} + 1.5 \text{ BW}^{0.75}$
IPCC (1997) Tier II	$CH_4 = [0.060 \times \text{GEI}] / 0.05565$
Yan et al. (2000) Model I	$CH_4 = [3.23 + 0.055 \times \text{GEI}] / 0.05565$
Corré (2002)	$CH_4 = [50.0 + 0.01 \times \text{Milk} \times 365] / 365 \times 1000$
Mills et al. (2003) Model I	$CH_4 = [5.93 + 0.92 \times \text{DMI}] / 0.05565$
Model II	$CH_4 = [56.27 - (56.27 + 0) \times e^{[-0.028 \times \text{DMI}]}] / 0.05565$
Model III	$CH_4 = [8.25 + 0.07 \times \text{MEI}] / 0.05565$
Model IV	$CH_4 = [45.98 - (45.98 + 0) \times e^{[-0.003 \times \text{MEI}]}] / 0.05565$
IPCC (2006) Tier II	$CH_4 = [0.065 \times \text{GEI}] / 0.05565$
Ellis et al. (2007) Model I	$CH_4 = [3.23 + 0.809 \times \text{DMI}] / 0.05565$
Model II	$CH_4 = [3.14 + 2.11 \times \text{NDFI}] / 0.05565$
Model III	$CH_4 = [4.08 + 0.068 \times \text{MEI}] / 0.05565$
Model IV	$CH_4 = [1.21 + 0.059 \times \text{MEI} + 0.093 \times \text{Forage}] / 0.05565$
Model V	$CH_4 = [8.56 + 0.139 \times \text{Forage}] / 0.05565$
Model VI	$CH_4 = [2.16 + 0.493 \times \text{DMI} - 1.36 \times \text{ADFI} + 1.97 \times \text{NDFI}] / 0.05565$
Model VII	$CH_4 = [5.87 + 2.43 \times \text{ADFI}] / 0.05565$
Moate et al. (2011) Model I	$CH_4 = [24.51 - 0.0788 \times \text{EE}] \times \text{DMI}$
Model II	$CH_4 = [e^{(3.15 - 0.0035 \times \text{EE})}] \times \text{DMI}$
Model III	$CH_4 = 2.54 + 19.14 \times \text{DMI}$
Nielsen et al. (2013) Model I	$CH_4 = [1.36 \times \text{DMI} - 0.125 \times \text{FA} - 0.02 \times \text{CP} + 0.017 \times \text{NDF}] / 0.05565$
Model II	$CH_4 = [1.23 \times \text{DMI} - 0.145 \times \text{FA} + 0.012 \times \text{NDF}] / 0.05565$
Model III	$CH_4 = [1.39 \times \text{DMI} - 0.091 \times \text{FA}] / 0.05565$
Model IV	$CH_4 = [1.26 \times \text{DMI}] / 0.05565$
Model V	$CH_4 = [738 \times \text{DMI_BW} - 0.145 \times \text{FA} + 0.013 \times \text{NDF}] / 0.05565$
Ramin and Huhtanen (2013) Model I	$CH_4 = [62 + 25 \times \text{DMI}] \times 16.0 / 22.4$
Model II	$CH_4 = [20 + 35.8 \times \text{DMI} - 0.5 \times \text{DMI}^2] \times 16.0 / 22.4$
Storlien et al. (2014) Model I	$CH_4 = [-1.47 + 1.28 \times \text{DMI}] / 0.05565$
Model II	$CH_4 = [-2.76 + 3.74 \times \text{NDFI}] / 0.05565$

Continuation..		
	Model III	$CH_4 = [6.80 + 1.09 \times DMI - 0.15 \times FA] / 0.05565$
Moraes et al. (2014)	Model I	$CH_4 = [3.247 + 0.043 \times GEI] / 0.05565$
	Model II	$CH_4 = [0.225 + 0.042 \times GEI + 0.125 \times NDF\% - 0.329 \times EE] / 0.05565$
Charmley et al. (2016)	Model I	$CH_4 = 38.0 + 19.22 \times DMI$
	Model II	$CH_4 = [2.14 + 0.058 \times GEI] / 0.05565$
Santiago-Juarez et al. (2016)	Model I	$CH_4 = [27.992 + 0.054 \times \text{Diet NDF} - 0.909 \times \text{Diet ME} - 0.295 \times \text{Diet EE}] / 0.05565$
	Model II	$CH_4 = [29.847 - 0.979 \times \text{Diet ME}] / 0.05565$
	Model III	$CH_4 = [3.911 + 0.128 \times MY + 1.274 \times MP + 2.166 \times MF] / 0.05565$
	Model IV	$CH_4 = [8.967 + 0.141 \times MY + 1.626 \times MP + 1.919 \times MF + 0.054 \times \text{Diet NDF} - 0.707 \times \text{Diet ME}] / 0.05565$
	Model V	$CH_4 = [11.496 + 0.134 \times MY + 1.514 \times MP + 1.952 \times MF - 0.726 \times \text{Diet ME}] / 0.05565$
	Model VI	$CH_4 = [-2.483 + 2.132 \times MF + 0.069 \times \text{Diet NDF} - 0.376 \times \text{Diet ME} - 0.185 \times \text{Diet EE} + 0.842 \times DMI] / 0.05565$
	Model VII	$CH_4 = [-2.639 + 2.149 \times MF + 0.068 \times \text{Diet NDF} - 0.406 \times \text{Diet ME} + 0.840 \times DMI] / 0.05565$
	Model VIII	$CH_4 = [-6.123 + 2.342 \times MF - 0.573 \times MP + 0.072 \times \text{Diet NDF} - 0.351 \times \text{Diet ME} - 0.232 \times \text{Diet EE} + 0.784 \times DMI + 0.009 \times BW] / 0.05565$
	Model IX	$CH_4 = [-7.381 + 2.249 \times MF + 0.071 \times \text{Diet NDF} - 0.407 \times \text{Diet ME} + 0.787 \times DMI + 0.009 \times BW] / 0.05565$
	Model X	$CH_4 = [-5.124 + 2.300 \times MF + 0.840 \times DMI] / 0.05565$
	Model XI	$CH_4 = [4.544 + 0.773 \times DMI] / 0.05565$

¹MY = milk yield (kg/d), BW = body weight (kg), GEI = gross energy intake (MJ/d), DMIBW = dry matter intake relative to BW (g/kg), DMI = dry matter intake (kg/d), MEI = metabolizable energy intake (MJ/d), NDFI = dietary neutral detergent fiber (NDF) intake (kg/d), Forage = dietary forage (% of DM), ADFI = dietary acid detergent fiber intake (kg/d), CP = dietary crude protein content (% of DM), NDF = dietary NDF content (g/kg DM), NDF% = dietary NDF content (% of DM), EE = dietary ether extract content (% of DM), FA = dietary fatty acid content (g/kg DM), MF = milk fat (%), and MP = milk protein (%).

531

532

533

Table 8 - Summary of statistical measures to assess the adequacy of proposed models using regression between observed (Y) and model predicted (X) enteric methane emission (EME) of lactating dairy cows

Item	Proposed Model					
	Animal		Diet		Animal + Diet	
	I	II	I	II	I	II
Observed EME (Y), g/d	390.50	383.75	436.32	424.44	437.65	441.43
Predicted EME (X), g/d	394.39	384.47	451.04	424.81	452.64	450.79
Mean bias (Y – X), g/d	-3.89	-0.72	-14.72	-0.34	-14.99	-9.36
N^1	85	76	27	29	21	20
Intercept (β_0)	-21.34	27.19	-393.78	-37.38	-57.70	10.61
Slope (β_1)	1.04	0.93	1.84	1.09	1.09	0.96
P-value ($H_0, \beta_0 = \text{zero and } \beta_1 = 1$)	0.80	0.75	0.37	0.85	0.29	0.59
(R^2)	0.38	0.55	0.08	0.66	0.62	0.65
MSEP ² , (g/d) ²	3753.19	2853.56	3809.82	1942.69	2220.17	1840.67
Root MSEP, g/d	61.26	53.42	61.62	44.08	47.12	42.90
Partition of MSEP, %						
Error due to mean bias	0.41	0.02	5.92	0.01	10.71	5.03
Error due to slope not equal to 1	0.11	0.75	1.62	1.21	1.05	0.38
Random error	99.48	99.23	92.45	98.78	88.24	94.58
CCC ³ (0 to 1)	0.53	0.72	0.08	0.78	0.72	0.79
ρ^4 (0 to 1)	0.61	0.74	0.28	0.81	0.78	0.81
C_b^5 (0 to 1)	0.87	0.98	0.28	0.96	0.92	0.98

534

535

536

537

538

¹From 35 experiments (Appendix 2 and Table S1 Online Data Supplement). ²Mean squared error of prediction. ³CCC = Concordance correlation coefficient. ⁴ ρ = Correlation coefficient estimate (precision). ⁵ C_b = Bias correction factor (accuracy).

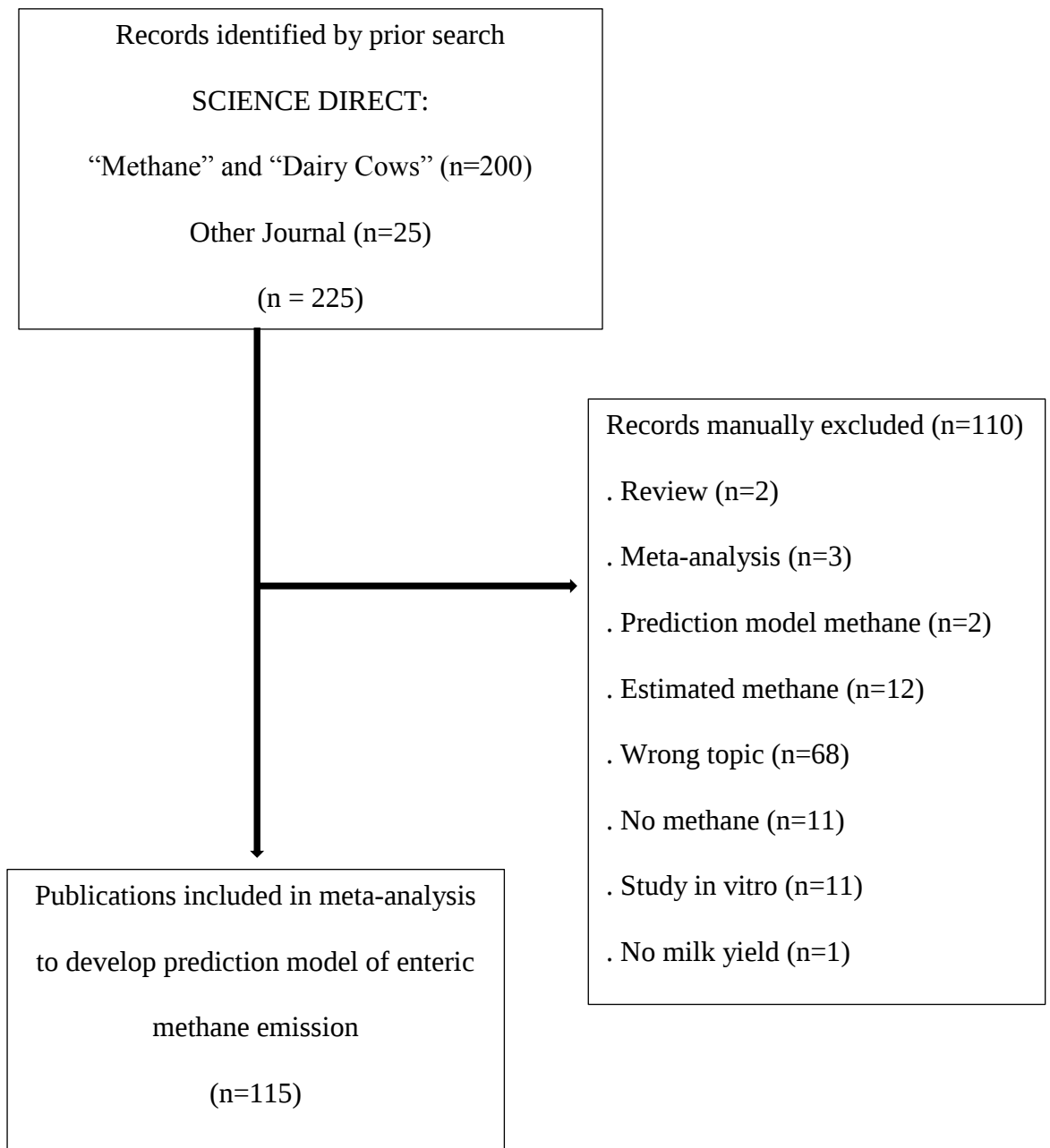


Figure 1. Flow chart showing inclusion criteria for selection of the publications (*peer review paper*) used for conducting the meta-analysis for prediction of enteric methane emission.

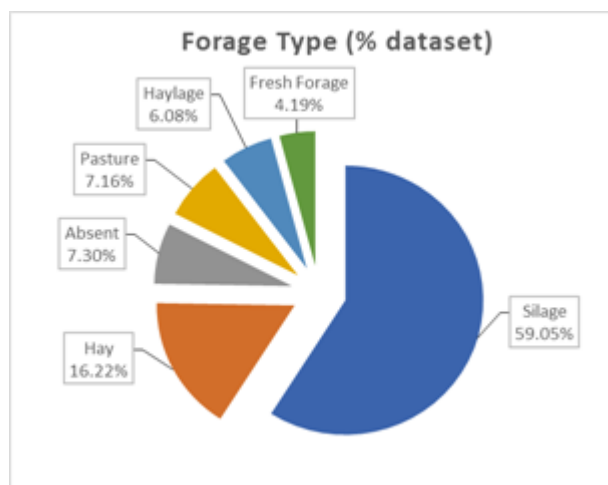
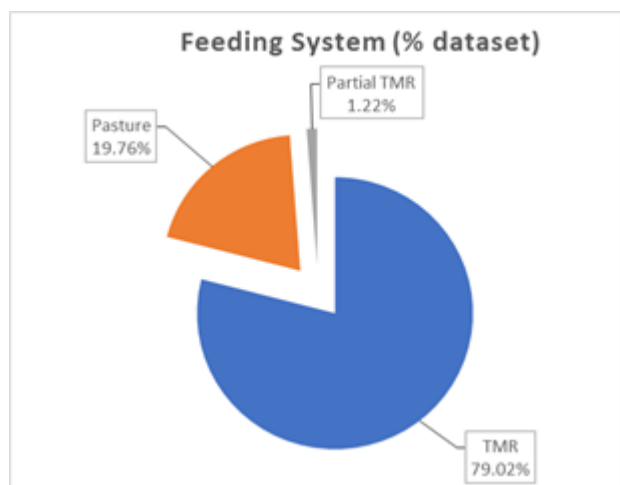
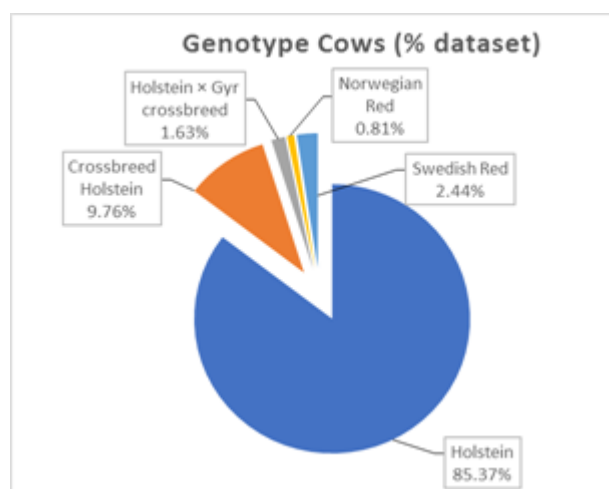
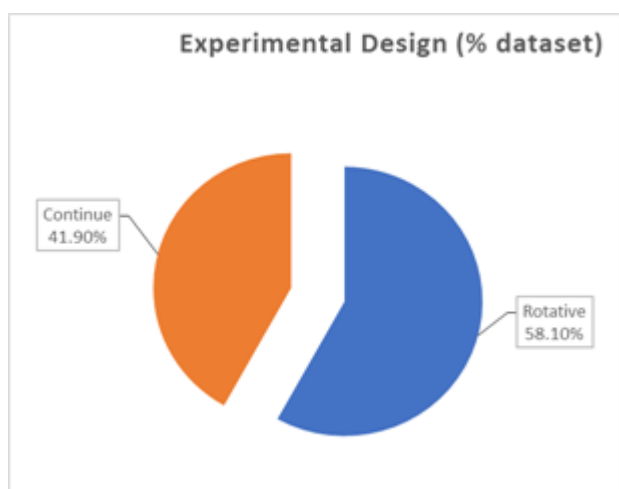
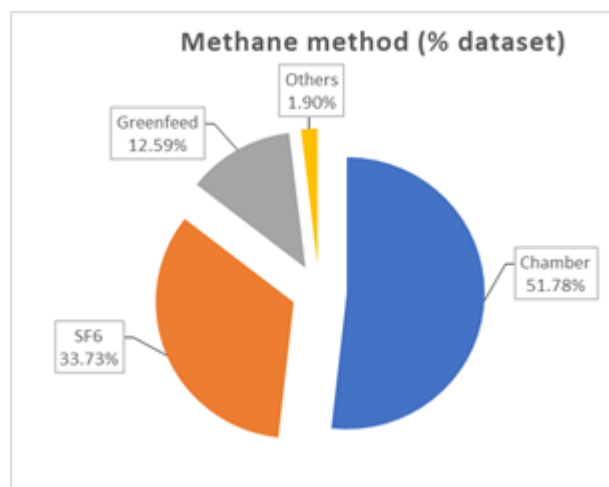
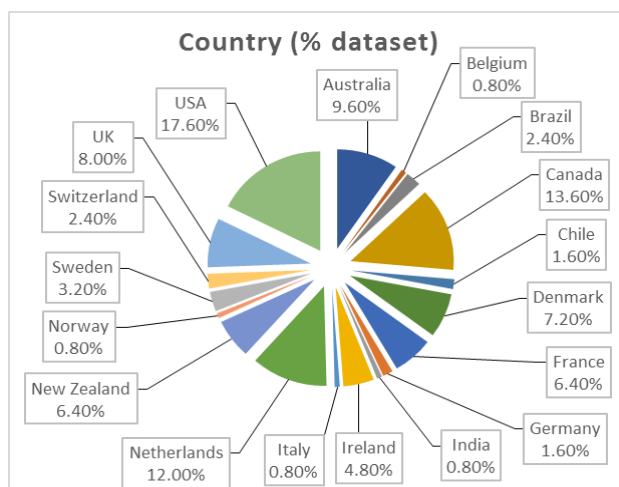


Figure 2 – Dataset distribution (%) by country, methane method, experimental design, genoty cows, feeding system and forage type of complete date uses to investigate factors affecting enteric methane emission from lactating dairy cows.

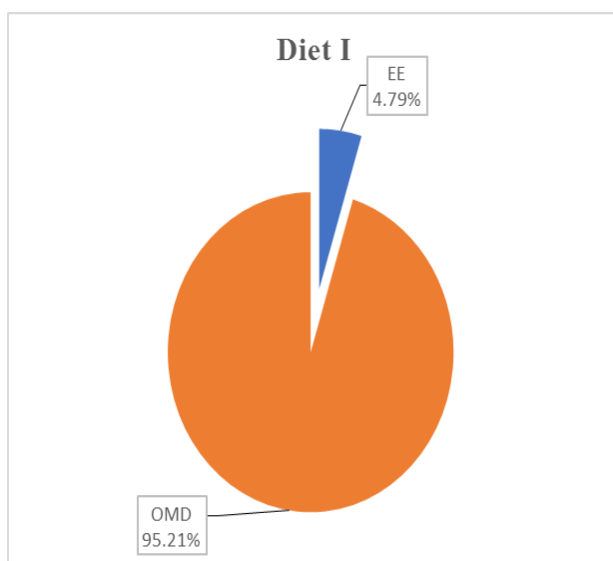
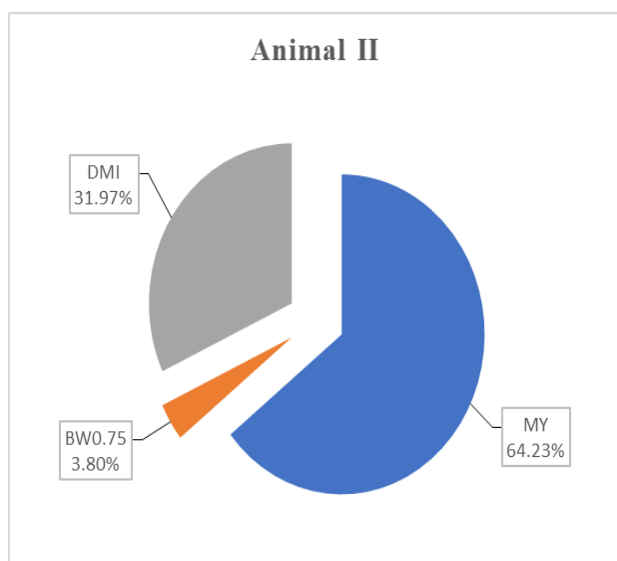
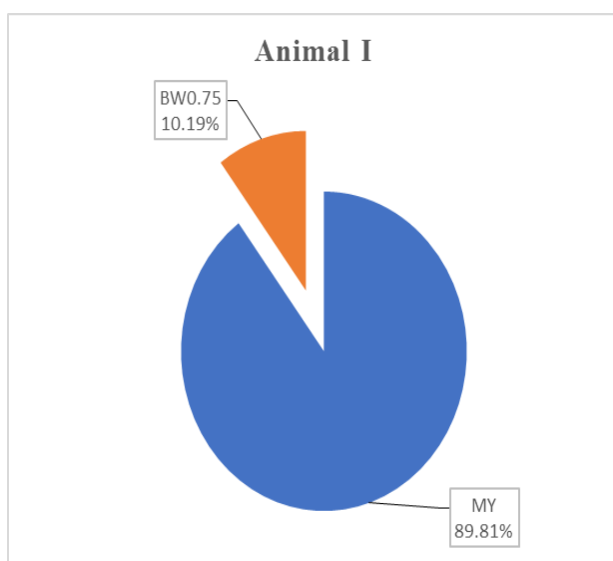
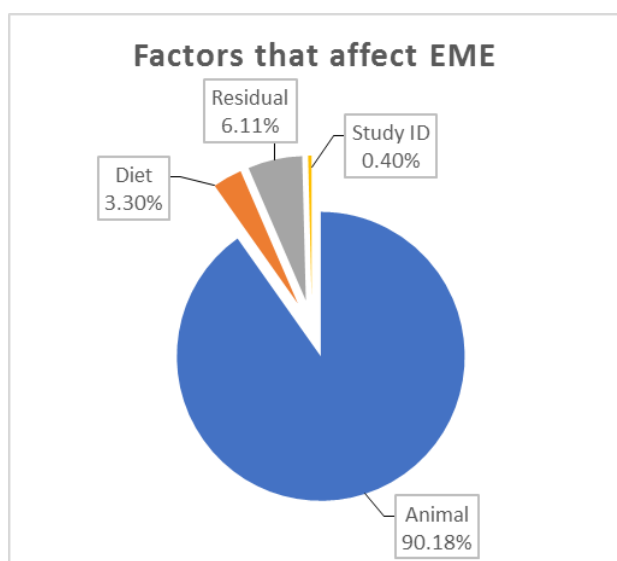


Figure 3a – Variance components analysis of the effect of animal and diet factors on enteric methane emission (EME; g/cow/day) from lactating dairy cows. Models Animal I, Animal II and Diet I are described in Table 6.

591

592
593

594
595
596
597
598

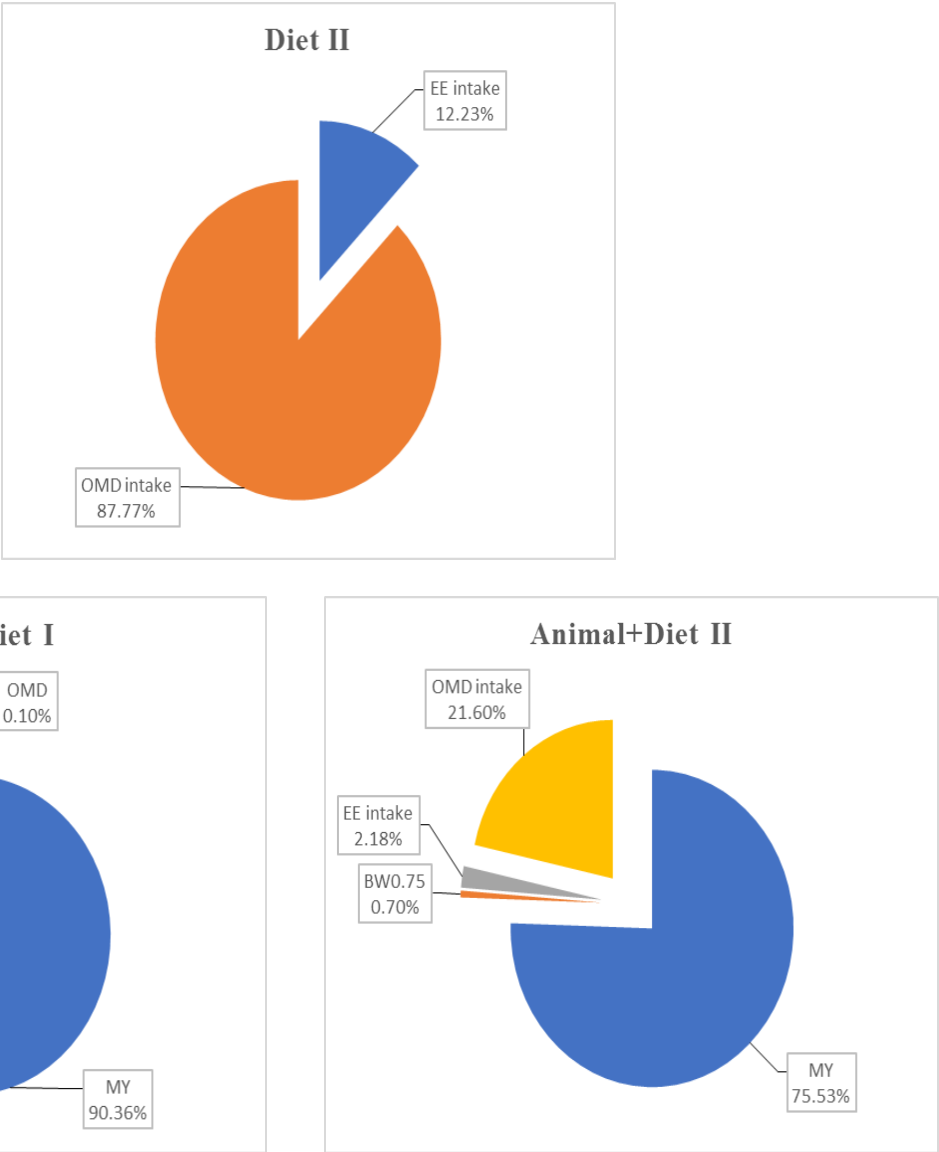
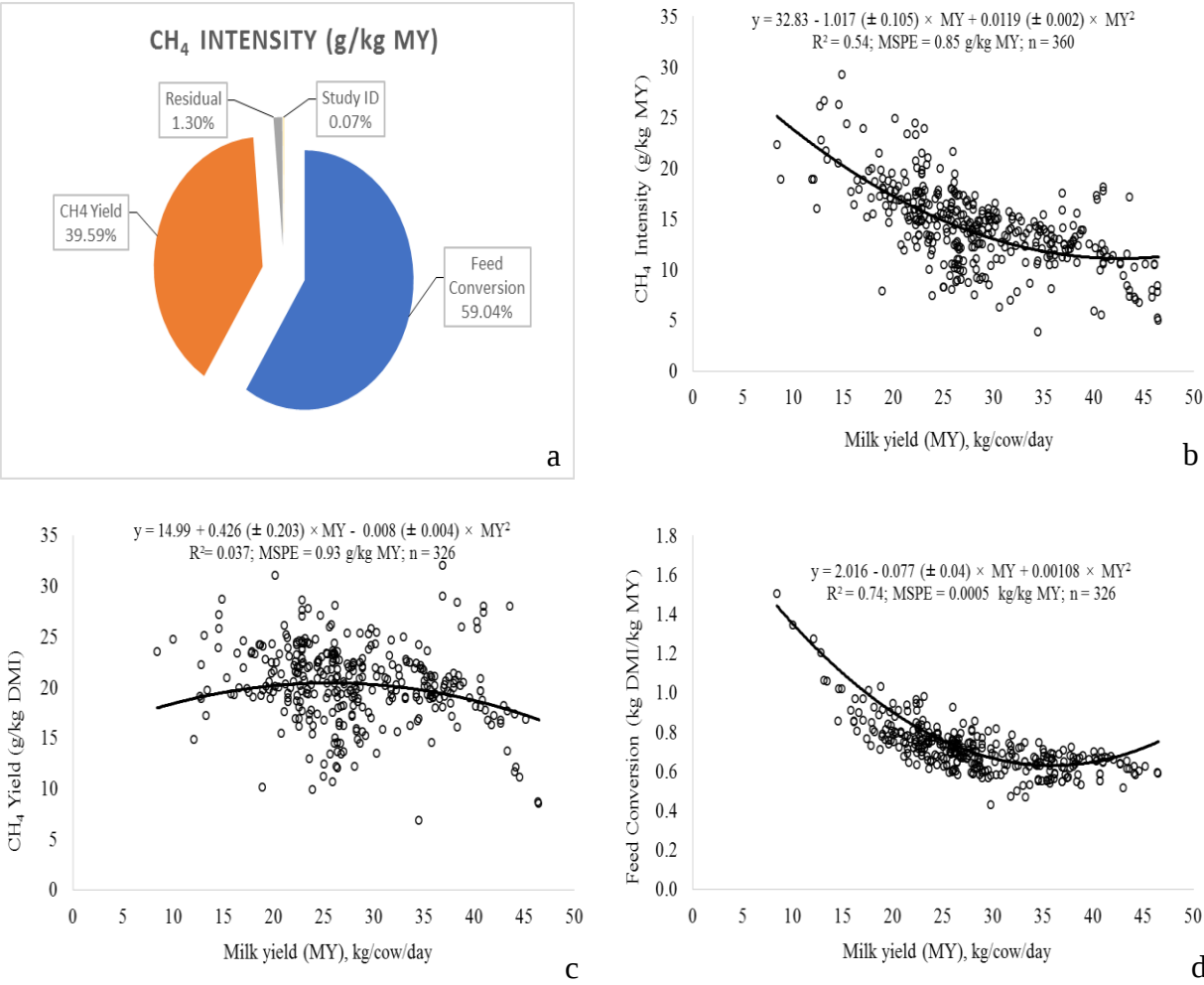


Figure 3b – Variance components analysis of the effect of animal and diet factors on enteric methane emission from lactating dairy cows. Models Diet II, Animal + Diet I and Animal + Diet II are described in Table 6.

599

$$\text{CH}_4 \text{ Intensity (g/kg MY)} = \text{CH}_4 \text{ Yield (g/kg DMI)} \times \text{Feed Conversion (kg DMI/kg MY)}$$

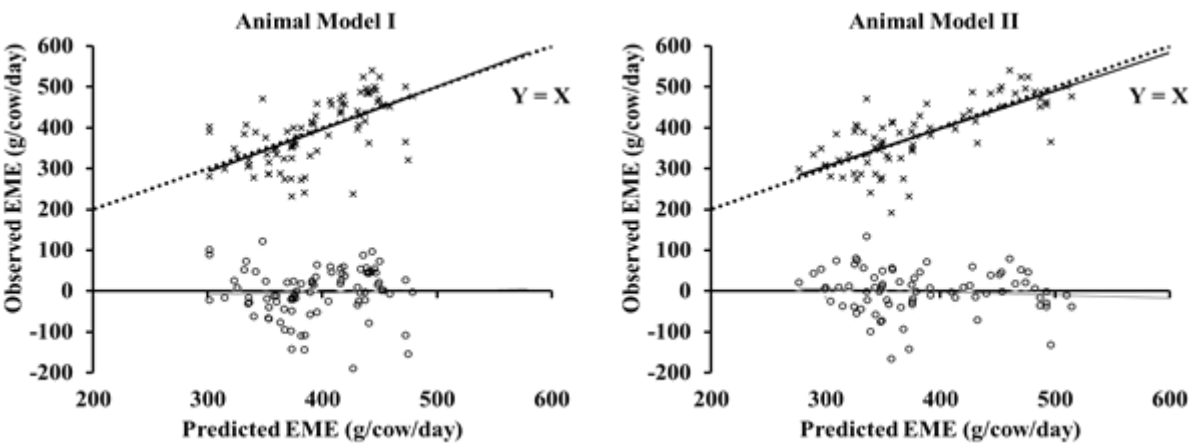
600



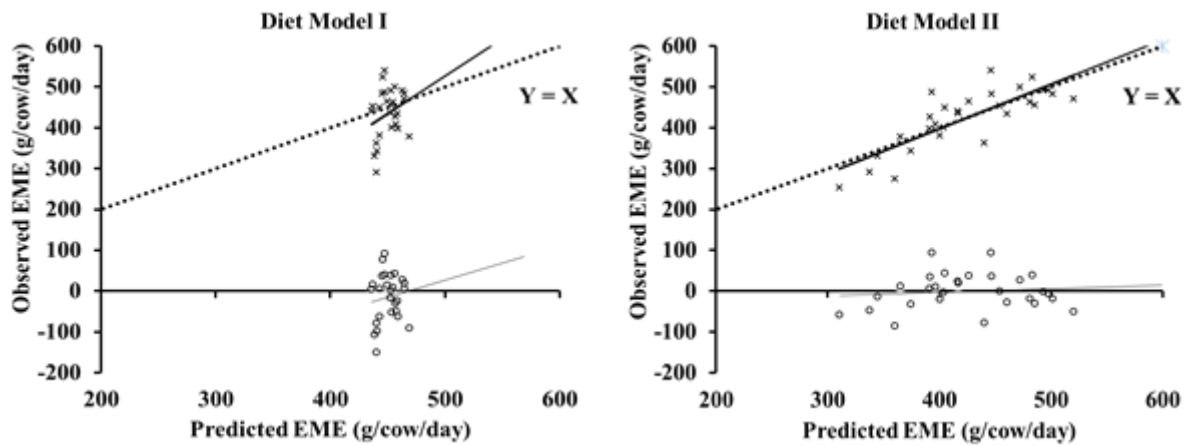
602

603 Figure 4 – Theoretical model to explain factors affecting CH₄ Intensity (g CH₄/kg MY in dairy
604 cows). Variance components analysis of the effect of feed conversion and CH₄ Yield on CH₄
605 Intensity (a). Relationship between CH₄ Intensity and milk yield (b). Relationship CH₄ Yield and
606 milk yield (c). Relationship Feed conversion and milk yield (d).

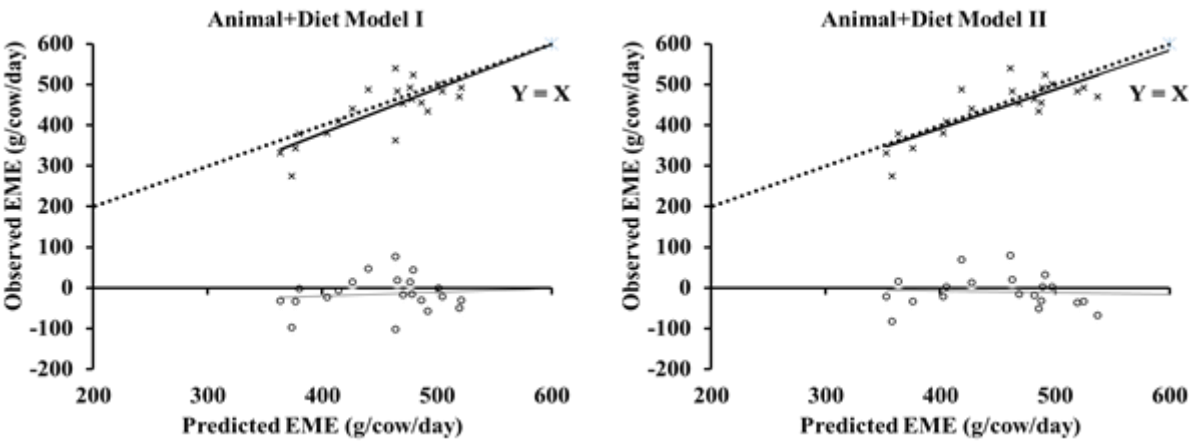
607



608



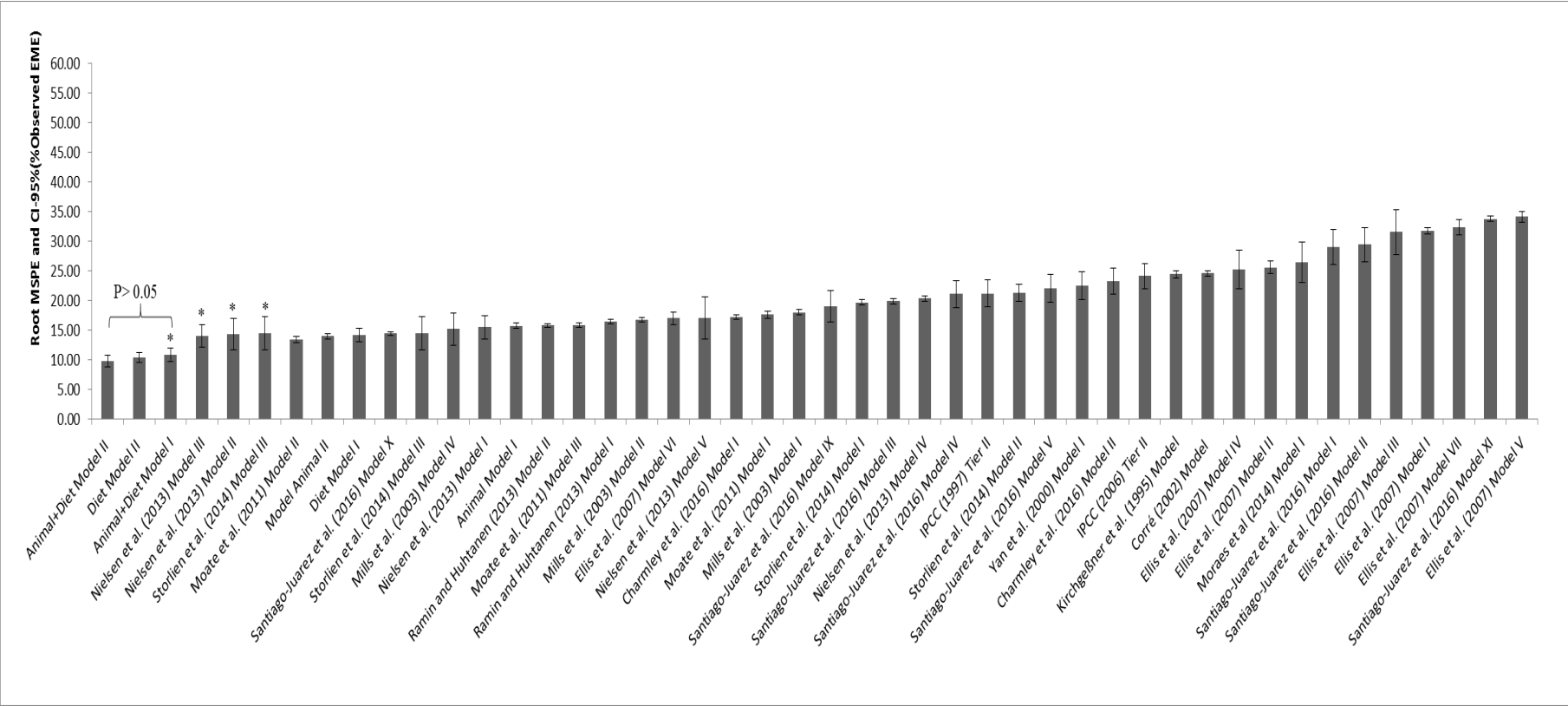
609



610

611 Figure 5 – Relationship between observed (squares) and residual (observed – predicted; circles) enteric
612 methane emission (EME), with predicted values for lacting dairy cows using the proposed models
613 (animal, diet, animal+diet).
614

615
616



617
618
619
620

Figure 6 – Values of root mean square prediction error (MSPE) and its confidence interval (CI 95%) of the enteric methane emission (EME) predictive models for lactating dairy cows.
* The same symbols present similar means $P > 0.05$.

ANEXO I

- Referencias dos artigos usados para desenvolver os modelos de predição da emissão de metano entérico
- AGLE, M., HRISTOV, A.N., ZAMAN, S., SCHNEIDER, C., NDEGWA, P.M., VADDELLA, V.K. Effect of dietary concentrate on rumen fermentation, digestibility, and nitrogen losses in dairy cows. **Journal of Dairy Science** v.93, p.4211-4222, 2010.
- AGUERRE, M.J., WATTIAUX, M.A., POWELL, J.M., BRODERICK, G.A., ARNDT, C. Effect of forage-to-concentrate ratio in dairy cow diets on emission of methane, carbon dioxide, and ammonia, lactation performance, and manure excretion. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p.3081-3093, 2011.
- ALSTRUP, L., HELLWING, A.L.F., LUND, P., WEISBJERG, M.R. Effect of fat supplementation and stage of lactation on methane production in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.207, p.10-19, 2015.
- BEAUCHEMIN, K.A., MCGINN, S.M., BENCHAAR, C., HOLTSHAUSEN, L. Crushed sunflower, flax, or canola seeds in lactating dairy cow diets: Effects on methane production, rumen fermentation, and milk production. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.2118-2127, 2009.
- BENCHAAR, C. Diet supplementation with cinnamon oil, cinnamaldehyde, or monensin does not reduce enteric methane production of dairy cows. **Animal** v.10:3, p.418-425, 2016.
- BENCHAAR, C., HASSANAT, F., GERVAIS, R., CHOUINARD, P.Y., JULIEN, C., PETIT, H.V., MASSÉ, D.I. Effects of increasing amounts of corn dried distillers grains with solubles in dairy cow diets on methane production, ruminal fermentation, digestion, N balance, and milk production. **Journal of Dairy Science** v.96, p.2413-2427, 2013.
- BENCHAAR, C., HASSANAT, F., PETIT, H.V., Dose-response to eugenol supplementation to dairy cow diets: Methane production, N excretion, ruminal fermentation, nutrient digestibility, milk production, and milk fatty acid profile. **Animal Feed Science and Technology**, v.209, p.51-59, 2015.

646 BRANCO, A.F., GIALLONGO, F., FREDERICK, T., WEEKS, H., OH, J., HRISTOV, A.N. Effect of
647 technical cashew nut shell liquid on rumen methane emission and lactation performance of dairy
648 cows. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.4030-4040, 2015.

649 BRASK, M., LUND, P., HELLWING, A.L.F., POULSEN, M., WEISBJERG, M.R. Enteric methane
650 production, digestibility and rumen fermentation in dairy cows fed different forages with and
651 without rapeseed fat supplementation. **Animal Feed Science and Technology**, v.184, p.67-79,
652 2013.

653 CAVANAGH, A., MCNAUGHTON, L., CLARK, H., GREAVES, C., GOWAN, J.M., PINARES-
654 PATINO, C., DALLEY, D., VLAMING, B., MOLANO, G. Methane emissions from grazing
655 Jersey×Friesian dairy cows in mid lactation. **Australian Journal of Experimental Agriculture**,
656 v.48, p.230-233, 2008.

657 CHUNG, Y.H., ZHOU, M., HOLTSHAUSEN, L., ALEXANDER, T.W., MCALLISTER, T.A.,
658 GUAN, L.L., OBA, M., BEAUCHEMIN, K.A. A fibrolytic enzyme additive for lactating Holstein
659 cow diets: Ruminal fermentation, rumen microbial populations, and enteric methane emissions.
660 **Journal of Dairy Science**, v.95, p.1419-1427, 2012.

661 DALL-ORSOLETTA, A.C., ALMEIDA, J.G.R., CARVALHO, P.C.F., SAVIAN, J.V., RIBEIRO-
662 FILHO, H.M.N. Ryegrass pasture combined with partial total mixed ration reduces enteric methane
663 emissions and maintains the performance of dairy cows during mid to late lactation. **Journal of**
664 **Dairy Science**, v.99, p.4374-4383, 2016.

665 DOREAU, M., FERLAY, A., ROCHETTE, Y., MARTIN, C. Effects of dehydrated lucerne and soya
666 bean meal on milk production and composition, nutrient digestion, and methane and nitrogen losses
667 in dairy cows receiving two different forages. **Animal** v.8:3, p.420-430, 2014 .

668 DORICH, C.D., VARNER, R.K., PEREIRA, A.B.D., MARTINEAU, R., SODER, K.J., BRITO, A.F.
669 Short communication: Use of a portable, automated, open-circuit gas quantification system and the
670 sulfur hexafluoride tracer technique for measuring enteric methane emissions in Holstein cows fed

671 ad libitum or restricted. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.2676-2681, 2015.

672 ENRIQUEZ-HIDALGO, D., GILLILAND, T., DEIGHTON, M.H., O'DONOVAN, M., HENNESSY,
673 D. Milk production and enteric methane emissions by dairy cows grazing fertilized perennial
674 ryegrass pasture with or without inclusion of white clover. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.1400-
675 1412, 2014.

676 FOLEY, P.A., KENNY, D.A., LOVETT, D.K., CALLAN, J.J., BOLAND, T.M., O'MARA, F.P.
677 Effect of dl-malic acid supplementation on feed intake, methane emissions, and performance of
678 lactating dairy cows at pasture. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.3258-3264, 2009.

679 FOTH, A.J., BROWN-BRANDL, T., HANFORD, K.J., MILLER, P.S., GARCIA GOMEZ, G.,
680 KONONOFF, P.J. Energy content of reduced-fat dried distillers grains with solubles for lactating
681 dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.7142-7152, 2015.

682 GARG, M.R., SHERASIA, P.L., BHANDERI, B.M., PHONDBA, B.T., SHELKE, S.K., MAKKAR,
683 H.P.S. Effects of feeding nutritionally balanced rations on animal productivity, feed conversion
684 efficiency, feed nitrogen use efficiency, rumen microbial protein supply, parasitic load, immunity
685 and enteric methane emissions of milking animals under field conditions. **Animal Feed Science and**
686 **Technology**, v.179, p.24-35, 2013.

687 GIDLUND, H., HETTA, M., KRIZSAN, S.J., LEMOSQUET, S., HUHTANEN, P. Effects of soybean
688 meal or canola meal on milk production and methane emissions in lactating dairy cows fed grass
689 silage-based diets. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.8093-8106, 2015.

690 GRAINGER, C., AULDIST, M.J., CLARKE, T., BEAUCHEMIN, K.A., MCGINN, S.M., HANNAH,
691 M.C., ECKARD, R.J., LOWE, L.B. Use of Monensin Controlled-Release Capsules to Reduce
692 Methane Emissions and Improve Milk Production of Dairy Cows Offered Pasture Supplemented
693 with Grain. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.1159-1165, 2008.

694 GRAINGER, C., CLARKE, T., AULDIST, M.J., BEAUCHEMIN, K.A., MCGINN, S.M.,
695 WAGHORN, G.C., ECKARD, R.J. Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce

methane emissions and nitrogen excretion from grazing dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v.89, p.241-251, 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 (SF₆) Tracer and Chamber Techniques. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.2755-2766, 2007.

GRAINGER, C., WILLIAMS, R., CLARKE, T., WRIGHT, A.D.G., 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, 2010a .

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

GUYADER, J., DOREAU, M., MORGAVI, D.P., GÉRARD, C., LONCKE, C., MARTIN, C. Long-term effect of linseed plus nitrate fed to dairy cows on enteric methane emission and nitrate and nitrite residuals in milk. **Animal**, v.10 p.1173-1181, 2016.

GUYADER, J., EUGÈNE, M., DOREAU, M., MORGAVI, D.P., GÉRARD, C., MARTIN, C. Tea saponin reduced methanogenesis in vitro but increased methane yield in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.1845-1855, 2017.

HAISAN, J., SUN, Y., GUAN, L.L., BEAUCHEMIN, K.A., IWAASA, A., DUVAL, S., BARREDA, D.R., OBA, M. The effects of feeding 3-nitrooxypropanol on methane emissions and productivity of Holstein cows in mid lactation. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.3110-3119, 2014.

HAMMOND, K.J., JONES, A.K., HUMPHRIES, D.J., CROMPTON, L.A., REYNOLDS, C.K. Effects of diet forage source and neutral detergent fiber content on milk production of dairy cattle and methane emissions determined using GreenFeed and respiration chamber techniques. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.7904-7917, 2016.

721 HAQUE, M.N., CORNOU, C., MADSEN, J. Estimation of methane emission using the CO₂ method
 722 from dairy cows fed concentrate with different carbohydrate compositions in automatic milking
 723 system. **Livestock Science**, v.164, p.57-66, 2014.

724 HART, K., J., HUNTINGTON, A., J., WILKINSON, G., R., BARTRAM, C.G., SINCLAIR, L.A. The
 725 influence of grass silage-to-maize silage ratio and concentrate composition on methane emissions,
 726 performance and milk composition of dairy cows. **Animal**, v.9, p.983-991, 2015.

727 HASSANAT, F., GERVAIS, R., MASSÉ, D.I., PETIT, H.V., BENCHAAAR, C. Methane production,
 728 nutrient digestion, ruminal fermentation, N balance, and milk production of cows fed timothy silage-
 729 or alfalfa silage-based diets. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.6463-6474, 2014.

730 HATEW, B., BANNINK, A., VAN LAAR, H., DE JONGE, L.H., DIJKSTRA, J. Increasing harvest
 731 maturity of whole-plant corn silage reduces methane emission of lactating dairy cows. **Journal of**
 732 **Dairy Science**, v.99, p.354-368, 2016.

733 HATEW, B., CONE, J.W., PELLIKAAN, W.F., PODESTA, S.C., BANNINK, A., HENDRIKS, W.H.,
 734 DIJKSTRA, J. Relationship between in vitro and in vivo methane production measured
 735 simultaneously with different dietary starch sources and starch levels in dairy cattle. **Animal Feed**
 736 **Science and Technology**, v.202, p.20-31, 2015.

737 HELLWING, A.L.F., WEISBJERG, M.R., MØLLER, H.B. Enteric and manure-derived methane
 738 emissions and biogas yield of slurry from dairy cows fed grass silage or maize silage with and
 739 without supplementation of rapeseed. **Livestock Science**, v.165, p.189-199, 2014.

740 HOLTER, J.B., COLOVOS, N.F., CLARK, R.M., KOES, R.M., DAVIS, H.A., URBAN JR, W.E.
 741 Urea for Lactating Dairy Cattle. V. Concentrate Fiber and Urea in a Corn Silage-High Concentrate
 742 Ration1. **Journal of Dairy Science**, v.54, p.1475-1481, 1971.

743 HRISTOV, A.N., LEE, C., CASSIDY, T., LONG, M., HEYLER, K., CORL, B., FORSTER, R. Effects
 744 of lauric and myristic acids on ruminal fermentation, production, and milk fatty acid composition in
 745 lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.382-395, 2011.

746 HRISTOV, A.N., OH, J., GIALLONGO, F., FREDERICK, T.W., HARPER, M.T., WEEKS, H.L.,
747 BRANCO, A.F., MOATE, P.J., DEIGHTON, M.H., WILLIAMS, S.R.O., KINDERMANN, M.,
748 DUVAL, S. An inhibitor persistently decreased enteric methane emission from dairy cows with no
749 negative effect on milk production. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.112, p.
750 10663-10668, 2015.

751 HRISTOV, A.N., VARGA, G., CASSIDY, T., LONG, M., HEYLER, K., KARNATI, S.K.R., CORL,
752 B., HOVDE, C.J., YOON, I. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on ruminal
753 fermentation and nutrient utilization in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.682-692,
754 2010.

755 HUHTANEN, P., CABEZAS-GARCIA, E.H., UTSUMI, S., ZIMMERMAN, S. Comparison of
756 methods to determine methane emissions from dairy cows in farm conditions. **Journal of Dairy**
757 **Science**, v.98, p.3394-3409, 2015.

758 HUYEN, N.T., DESRUES, O., ALFERINK, S.J.J., ZANDSTRA, T., VERSTEGEN, M.W.A.,
759 HENDRIKS, W.H., PELLIKAAN, W.F. Inclusion of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) silage in dairy
760 cow rations affects nutrient digestibility, nitrogen utilization, energy balance, and methane
761 emissions. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.3566-3577, 2016.

762 HYNES, D.N., STERGIADIS, S., GORDON, A., YAN, T. Effects of concentrate crude protein content
763 on nutrient digestibility, energy utilization, and methane emissions in lactating dairy cows fed fresh-
764 cut perennial grass. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.8858-8866, 2016.

765 JOHANSEN, M., HELLWING, A.L.F., LUND, P., WEISBJERG, M.R. Metabolisable protein supply
766 to lactating dairy cows increased with increasing dry matter concentration in grass-clover silage.
767 **Animal Feed Science and Technology**, v.227, p.95-106, 2017.

768 JONKER, A., MOLANO, G., KOOLAARD, J., MUETZEL, S. Methane emissions from lactating and
769 non-lactating dairy cows and growing cattle fed fresh pasture. **Animal Production Science**, v.57,
770 p.643-648 2016.

771 JONKER, A., SCOBIE, D., DYNES, R., EDWARDS, G., KLEIN, C.D., HAGUE, H., MCAULIFFE,
772 R., TAYLOR, A., KNIGHT, T., WAGHORN , G. Feeding diets with fodder beet decreased
773 methane emissions from dry and lactating dairy cows in grazing systems. **Animal Production**
774 **Science**, v.57, p.1445-1450, 2017.

775 KINSMAN, R., SAUER, F.D., JACKSON, H.A., WOLYNETZ, M.S. Methane and Carbon Dioxide
776 Emissions from Dairy Cows in Full Lactation Monitored over a Six-Month Period. **Journal of**
777 **Dairy Science**, v.78, p.2760-2766, 1995.

778 KLOP, G., DIJKSTRA, J., DIEHO, K., HENDRIKS, W.H., BANNINK, A. Enteric methane
779 production in lactating dairy cows with continuous feeding of essential oils or rotational feeding of
780 essential oils and lauric acid. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.3563-3575, 2017.

781 KLOP, G., HATEW, B., BANNINK, A., DIJKSTRA, J. Feeding nitrate and docosahexaenoic acid
782 affects enteric methane production and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. **Journal**
783 **of Dairy Science**, v.99, p.1161-1172, 2016.

784 LEJONKLEV, J., KIDMOSE, U., JENSEN, S., PETERSEN, M.A., HELWING, A.L.F.,
785 MORTENSEN, G., WEISBJERG, M.R., LARSEN, M.K. Short communication: Effect of oregano
786 and caraway essential oils on the production and flavor of cow milk. **Journal of Dairy Science**,
787 v.99, p.7898-7903, 2016.

788 LETTAT, A., HASSANAT, F., BENCHAAAR, C. Corn silage in dairy cow diets to reduce ruminal
789 methanogenesis: Effects on the rumen metabolically active microbial communities. **Journal of**
790 **Dairy Science**, v.96, p.5237-5248, 2013.

791 LOPES, J.C., DE MATOS, L.F., HARPER, M.T., GIALLONGO, F., OH, J., GRUEN, D., ONO, S.,
792 KINDERMANN, M., DUVAL, S., HRISTOV, A.N. Effect of 3-nitrooxypropanol on methane and
793 hydrogen emissions, methane isotopic signature, and ruminal fermentation in dairy cows. **Journal**
794 **of Dairy Science**, v.99, p.5335-5344, 2016.

795 LOPES, J.C., HARPER, M.T., GIALLONGO, F., OH, J., SMITH, L., ORTEGA-PEREZ, A.M.,

796 HARPER, S.A., MELGAR, A., KNIFFEN, D.M., FABIN, R.A., HRISTOV, A.N. Effect of high-
 797 oleic-acid soybeans on production performance, milk fatty acid composition, and enteric methane
 798 emission in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.1122-1135, 2017.

799 MACHADO, F.S., TOMICH, T.R., FERREIRA, A.L., CAVALCANTI, L.F.L., CAMPOS, M.M.,
 800 PAIVA, C.A.V., RIBAS, M.N., PEREIRA, L.G.R. Technical note: A facility for respiration
 801 measurements in cattle. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.4899-4906, 2016.

802 MACOME, F.M., PELLIKAAN, W.F., SCHONEWILLE, J.T., BANNINK, A., VAN LAAR, H.,
 803 HENDRIKS, W.H., WARNER, D., CONE, J.W. In vitro rumen gas and methane production of
 804 grass silages differing in plant maturity and nitrogen fertilisation, compared to in vivo enteric
 805 methane production. **Animal Feed Science and Technology**, v.230, p.96-102, 2017.

806 MARTIN, C., FERLAY, A., MOSONI, P., ROCHETTE, Y., CHILLIARD, Y., DOREAU, M.
 807 Increasing linseed supply in dairy cow diets based on hay or corn silage: Effect on enteric methane
 808 emission, rumen microbial fermentation, and digestion. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.3445-
 809 3456, 2016.

810 MARTIN, C., ROUEL, J., JOUANY, J.P., DOREAU, M., CHILLIARD, Y. Methane output and diet
 811 digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil.
 812 **Animal Science** v.86, p.2642-2650, 2015.

813 MATA E SILVA , B.C., LOPES, F.C.F., PEREIRA, L.G.R., TOMICH, T.R., MORENZ, M.J.F.,
 814 MARTINS, C.E., GOMIDE, C., M., A., PACIULLO, D.S.C., MAURÍCIO , R.M., CHAVES, A.V.
 815 Effect of sunflower oil supplementation on methane emissions of dairy cows grazing *Urochloa*
 816 *brizantha* cv. marandu. **Animal Production Science**, v.57, p.1431-1436, 2017.

817 MOATE, P.J., WILLIAMS, S.R.O., GRAINGER, C., HANNAH, M.C., PONNAMPALAM, E.N.,
 818 ECKARD, R.J. Influence of cold-pressed canola, brewers grains and hominy meal as dietary
 819 supplements suitable for reducing enteric methane emissions from lactating dairy cows. **Animal**
 820 **Feed Science and Technology**, v.166, p.254-264, 2011.

821 MOATE, P.J., WILLIAMS, S.R.O., HANNAH, M.C., ECKARD, R.J., AULDIST, M.J., RIBAUX,
822 B.E., JACOBS, J.L., WALES, W.J. Effects of feeding algal meal high in docosahexaenoic acid on
823 feed intake, milk production, and methane emissions in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.96,
824 p.3177-3188, 2013.

825 MUÑOZ, C., LETELIER, P.A., UNGERFELD, E.M., MORALES, J.M., HUBE, S., PÉREZ-PRIETO,
826 L.A. Effects of pregrazing herbage mass in late spring on enteric methane emissions, dry matter
827 intake, and milk production of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.7945-7955, 2016a.

828 MUÑOZ, C., WILLS , A., D., YAN , T. Effects of dietary active dried yeast (*Saccharomyces*
829 *cerevisiae*) supply at two levels of concentrate on energy and nitrogen utilisation and methane
830 emissions of lactating dairy cows. **Animal Production Science**, v.57, p.656-664, 2016b.

831 MUÑOZ, C., YAN, T., WILLS, D.A., MURRAY, S., GORDON, A.W. Comparison of the sulfur
832 hexafluoride tracer and respiration chamber techniques for estimating methane emissions and
833 correction for rectum methane output from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.3139-
834 3148, 2012.

835 NIU, M., APPUHAMY, J.A., N., D.R., LEYTEM, A.B., DUNGAN , R.S., KEBREAB , E. Effect of
836 dietary crude protein and forage contents on enteric methane emissions and nitrogen excretion from
837 dairy cows simultaneously. **Animal Production Science**, v.56, p.312-321, 2016.

838 ODONGO, N.E., OR-RASHID, M.M., KEBREAB, E., FRANCE, J., MCBRIDE, B.W. Effect of
839 Supplementing Myristic Acid in Dairy Cow Rations on Ruminal Methanogenesis and Fatty Acid
840 Profile in Milk. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.1851-1858, 2007.

841 OLIJHOEK, D.W., HELLWING, A.L.F., BRASK, M., WEISBJERG, M.R., HØJBERG, O.,
842 LARSEN, M.K., DIJKSTRA, J., ERLANDSEN, E.J., LUND, P. Effect of dietary nitrate level on
843 enteric methane production, hydrogen emission, rumen fermentation, and nutrient digestibility in
844 dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.6191-6205, 2016.

845 O'NEILL, B.F., DEIGHTON, M.H., O'LOUGHLIN, B.M., MULLIGAN, F.J., BOLAND, T.M.,

846 O'DONOVAN, M., LEWIS, E. Effects of a perennial ryegrass diet or total mixed ration diet offered
847 to spring-calving Holstein-Friesian dairy cows on methane emissions, dry matter intake, and milk
848 production. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.1941-1951, 2011.

849 PHILIPPEAU, C., LETTAT, A., MARTIN, C., SILBERBERG, M., MORGAVI, D.P., FERLAY, A.,
850 BERGER, C., NOZIÈRE, P. Effects of bacterial direct-fed microbials on ruminal characteristics,
851 methane emission, and milk fatty acid composition in cows fed high- or low-starch diets. **Journal of**
852 **Dairy Science**, v.100, p.2637-2650, 2017.

853 PIRONDINI, M., COLOMBINI, S., MELE, M., MALAGUTTI, L., RAPETTI, L., GALASSI, G.,
854 CROVETTO, G.M. Effect of dietary starch concentration and fish oil supplementation on milk yield
855 and composition, diet digestibility, and methane emissions in lactating dairy cows. **Journal of**
856 **Dairy Science**, v.98, p.357-372, 2015.

857 REYNOLDS, C.K., HUMPHRIES, D.J., KIRTON, P., KINDERMANN, M., DUVAL, S.,
858 STEINBERG, W. Effects of 3-nitrooxypropanol on methane emission, digestion, and energy and
859 nitrogen balance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.3777-3789, 2014.

860 STAERFL, S.M., AMELCHANKA, S.L., KÄLBER, T., SOLIVA, C.R., KREUZER, M., ZEITZ, J.O.
861 Effect of feeding dried high-sugar ryegrass ('AberMagic') on methane and urinary nitrogen
862 emissions of primiparous cows. **Livestock Science**, v.150, p.293-301, 2012.

863 STOLDT, A.-K., DERNO, M., DAS, G., WEITZEL, J.M., WOLFFRAM, S., METGES, C.C. Effects
864 of rutin and buckwheat seeds on energy metabolism and methane production in dairy cows. **Journal**
865 **of Dairy Science**, v.99, p.2161-2168, 2016.

866 STORLIEN, T.M., PRESTLØKKEN, E., BEAUCHEMIN, K.A., MCALLISTER, T.A., IWAASA, A.,
867 HARSTAD, O.M.,. Supplementation with crushed rapeseed causes reduction of methane emissions
868 from lactating dairy cows on pasture. **Animal Production Science**, v.57, p.81-89, 2015.

869 VAN DORLAND, H.A., WETTSTEIN, H.R., LEUENBERGER, H., KREUZER, M. Effect of
870 supplementation of fresh and ensiled clovers to ryegrass on nitrogen loss and methane emission of

871 dairy cows. **Livestock Science**, v.111, p.57-69, 2007.

872 VAN VUGT, C. J. Impact of monensin on methane production and performance of cows fed forage
873 diets. In: **PROCEEDINGS-NEW ZEALAND SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION**. New
874 Zealand Society of Animal Production, 1999, p. 362.

875 VAN ZIJDERVELD, S.M., DIJKSTRA, J., PERDOK, H.B., NEWBOLD, J.R., GERRITS, W.J.J.
876 Dietary inclusion of diallyl disulfide, yucca powder, calcium fumarate, an extruded linseed product,
877 or medium-chain fatty acids does not affect methane production in lactating dairy cows. **Journal of**
878 **Dairy Science**, v.94, p.3094-3104, 2011a.

879 VAN ZIJDERVELD, S.M., FONKEN, B., DIJKSTRA, J., GERRITS, W.J.J., PERDOK, H.B.,
880 FOKKINK, W., NEWBOLD, J.R. Effects of a combination of feed additives on methane
881 production, diet digestibility, and animal performance in lactating dairy cows. **Journal of Dairy**
882 **Science**, v.94, p.1445-1454, 2011b.

883 VAN ZIJDERVELD, S.M., GERRITS, W.J.J., DIJKSTRA, J., NEWBOLD, J.R., HULSHOF, R.B.A.,
884 PERDOK, H.B. Persistency of methane mitigation by dietary nitrate supplementation in dairy cows.
885 **Journal of Dairy Science**, v.94, p.4028-4038, 2011c.

886 WARNER, D., HATEW, B., PODESTA, S.C., KLOP, G., VAN GASTELLEN, S., VAN LAAR, H.,
887 DIJKSTRA, J., BANNINK, A. Effects of nitrogen fertilisation rate and maturity of grass silage on
888 methane emission by lactating dairy cows. **Animal**, v.10, p.34-43, 2016.

889 WARNER, D., PODESTA, S.C., HATEW, B., KLOP, G., VAN LAAR, H., BANNINK, A.,
890 DIJKSTRA, J. Effect of nitrogen fertilization rate and regrowth interval of grass herbage on
891 methane emission of zero-grazing lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.3383-
892 3393, 2015.

893 WATT, L.J., CLARK, C.E.F., KREBS, G.L., PETZEL, C.E., NIELSEN, S., UTSUMI, S.A.
894 Differential rumination, intake, and enteric methane production of dairy cows in a pasture-based
895 automatic milking system. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.7248-7263, 2015.

896 XUE, B., YAN, T., FERRIS, C.F., MAYNE, C.S. Milk production and energy efficiency of Holstein
897 and Jersey-Holstein crossbred dairy cows offered diets containing grass silage. **Journal of Dairy**
898 **Science**, v.94, p.1455-1464, 2011.

ANEXO II

Referencias dos artigos usados para avaliar os modelos de predição da emissão de metano entérico

AGUINAGA CASAÑAS, M.A., RANGKASENEE, N., KRATTENMACHER, N., THALLER, G., METGES, C.C., KUHLA, B. Methyl-coenzyme M reductase A as an indicator to estimate methane production from dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.4074-4083, 2015.

ARNDT, C., POWELL, J.M., AGUERRE, M.J., WATTIAUX, M.A. Performance, digestion, nitrogen balance, and emission of manure ammonia, enteric methane, and carbon dioxide in lactating cows fed diets with varying alfalfa silage-to-corn silage ratios. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.418-430, 2015.

BENCHAAAR, C., HASSANAT, F., GERVAIS, R., CHOUINARD, P.Y., PETIT, H.V., MASSÉ, D.I. Methane production, digestion, ruminal fermentation, nitrogen balance, and milk production of cows fed corn silage- or barley silage-based diets. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.961-974, 2014.

BENCHAAAR, C., HASSANAT, F., PETIT, H.V. Dose–response to eugenol supplementation to dairy cow diets: Methane production, N excretion, ruminal fermentation, nutrient digestibility, milk production, and milk fatty acid profile. **Animal Feed Science and Technology**, v.209, p.51-59, 2015.

BRASK, M., LUND, P., WEISBJERG, M.R., HELLWING, A.L.F., POULSEN, M., LARSEN, M.K., HVELPLUND, T. Methane production and digestion of different physical forms of rapeseed as fat supplements in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.2356-2365, 2013.

ELLIS, J.L., HINDRICHSEN, I.K., KLOP, G., KINLEY, R.D., MILORA, N., BANNINK, A., DIJKSTRA, J. Effects of lactic acid bacteria silage inoculation on methane emission

- and productivity of Holstein Friesian dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.7159-7174, 2016.
- GIDLUND, H., HETTA, M., HUHTANEN, P. Milk production and methane emissions from dairy cows fed a low or high proportion of red clover silage and an incremental level of rapeseed expeller. **Livestock Science** v.197, p.73-81, 2017.
- GRAINGER, C., CLARKE, T., BEAUCHEMIN, K.A., MCGINN, S.M., ECKARD, R.J. Supplementation with whole cottonseed reduces methane emissions and can profitably increase milk production of dairy cows offered a forage and cereal grain diet. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.48, p. 73-76, 2008.
- HAISAN, J., SUN, Y., GUAN, L., BEAUCHEMIN, K.A., IWAASA, A., DUVAL, S., KINDERMANN, M., BARREDA, D.R., OBA, M. The effects of feeding 3-nitrooxypropanol at two doses on milk production, rumen fermentation, plasma metabolites, nutrient digestibility, and methane emissions in lactating Holstein cows. **Animal Production Science**, v.57, p.282-289, 2017.
- HAMILTON, S.W., DEPETERS, E.J., MCGARVEY, J.A., LATHROP, J., MITLOEHNER, F.M. Greenhouse Gas, Animal Performance, and Bacterial Population Structure Responses to Dietary Monensin Fed to Dairy Cows. **Journal of Environmental Quality**, v.39, p.106-114, 2010.
- HARPER, M.T., OH, J., GIALLONGO, F., LOPES, J.C., ROTH, G.W., HRISTOV, A.N. Using brown midrib 6 dwarf forage sorghum silage and fall-grown oat silage in lactating dairy cow rations. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.5250-5265, 2017a.
- HARPER, M.T., OH, J., GIALLONGO, F., ROTH, G.W., HRISTOV, A.N. Inclusion of wheat and triticale silage in the diet of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.6151-6163, 2017b.
- HASSANAT, F., GERVAIS, R., BENCHAAAR, C. Methane production, ruminal fermentation

- characteristics, nutrient digestibility, nitrogen excretion, and milk production of dairy cows fed conventional or brown midrib corn silage. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.2625-2636, 2017.
- HASSANAT, F., GERVAIS, R., JULIEN, C., MASSÉ, D.I., LETTAT, A., CHOUINARD, P.Y., PETIT, H.V., BENCHAAR, C. Replacing alfalfa silage with corn silage in dairy cow diets: Effects on enteric methane production, ruminal fermentation, digestion, N balance, and milk production. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.4553-4567, 2013.
- HATEW, B., PODESTA, S.C., VAN LAAR, H., PELLIKAAN, W.F., ELLIS, J.L., DIJKSTRA, J., BANNINK, A. Effects of dietary starch content and rate of fermentation on methane production in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.486-499, 2015.
- HOLLMANN, M., POWERS, W.J., FOGIEL, A.C., LIESMAN, J.S., BEEDE, D.K. Response profiles of enteric methane emissions and lactational performance during habituation to dietary coconut oil in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.1769-1781, 2013.
- HOLLMANN, M., POWERS, W.J., FOGIEL, A.C., LIESMAN, J.S., BELLO, N.M., BEEDE, D.K. Enteric methane emissions and lactational performance of Holstein cows fed different concentrations of coconut oil. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.2602-2615, 2012.
- HOLTER, J.B., KIM, C.W., COLOVOS, N.F. Methionine Hydroxy Analog for Lactating Dairy Cows^{1,2}. **Journal of Dairy Science**, v.55, p.460-465, 1972.
- HRISTOV, A.N., LEE, C., CASSIDY, T., HEYLER, K., TEKIPPE, J.A., VARGA, G.A., CORL, B., BRANDT, R.C. Effect of *Origanum vulgare* L. leaves on rumen fermentation, production, and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science** v.96, p.1189-1202, 2013.

- HRISTOV, A.N., OH, J., GIALLONGO, F., FREDERICK, T., HARPER, M.T., WEEKS, H., BRANCO, A.F., PRICE, W.J., MOATE, P.J., DEIGHTON, M.H., WILLIAMS, S.R.O., KINDERMANN, M., DUVAL, S. Short communication: Comparison of the GreenFeed system with the sulfur hexafluoride tracer technique for measuring enteric methane emissions from dairy cows. **Journal of Dairy Science** v.99, p.5461-5465, 2016.
- JIAO, H.P., DALE, A.J., CARSON, A.F., MURRAY, S., GORDON, A.W., FERRIS, C.P. Effect of concentrate feed level on methane emissions from grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.7043-7053, 2014.
- LIVINGSTONE, K.M., HUMPHRIES, D.J., KIRTON, P., KLIEM, K.E., GIVENS, D.I., REYNOLDS, C.K. Effects of forage type and extruded linseed supplementation on methane production and milk fatty acid composition of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science** v.98, p.4000-4011, 2015.
- LOVETT, D.K., STACK, L.J., LOVELL, S., CALLAN, J., FLYNN, B., HAWKINS, M., O'MARA, F.P. Manipulating Enteric Methane Emissions and Animal Performance of Late-Lactation Dairy Cows Through Concentrate Supplementation at Pasture. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.2836-2842, 2005.
- LUND, P., DAHL, R., YANG, H.J., HELLWING, F., A.L., CAO , B.B., WEISBJERG, M.R. The acute effect of addition of nitrate on in vitro and in vivo methane emission in dairy cows. **Animal Production Science**, v.54, p.1432-1435, 2014.
- MOATE, P.J., WILLIAMS, S.R.O., TOROK, V.A., HANNAH, M.C., RIBAUX, B.E., TAVENDALE, M.H., ECKARD, R.J., JACOBS, J.L., AULDIST, M.J., WALES, W.J. Grape marc reduces methane emissions when fed to dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.5073-5087, 2014.
- MOHAMMED, R., MCGINN, S.M., BEAUCHEMIN, K.A. Prediction of enteric methane output from milk fatty acid concentrations and rumen fermentation parameters in dairy

- cows fed sunflower, flax, or canola seeds. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.6057-6068, 2011.
- MUÑOZ, C., HUBE, S., MORALES, J.M., YAN, T., UNGERFELD, E.M. Effects of concentrate supplementation on enteric methane emissions and milk production of grazing dairy cows. **Livestock Science**, v.175, p.37-46, 2015.
- 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'NEILL, B.F., DEIGHTON, M.H., O'LOUGHLIN, B.M., GALVIN, N., O'DONOVAN, M., LEWIS, E. The effects of supplementing grazing dairy cows with partial mixed ration on enteric methane emissions and milk production during mid to late lactation¹. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.6582-6590, 2012.
- TEKIPPE, J.A., HRISTOV, A.N., HEYLER, K.S., CASSIDY, T.W., ZHELJAZKOV, V.D., FERREIRA, J.F.S., KARNATI, S.K., VARGA, G.A., 2011. Rumen fermentation and production effects of *Origanum vulgare* L. leaves in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.5065-5079, 2012.
- VAN GASTELN, S., ANTUNES-FERNANDES, E.C., HETTINGA, K.A., KLOP, G., ALFERINK, S.J.J., HENDRIKS, W.H., DIJKSTRA, J. Enteric methane production, rumen volatile fatty acid concentrations, and milk fatty acid composition in lactating Holstein-Friesian cows fed grass silage- or corn silage-based diets. **Journal of Dairy Science**, v.98, p.1915-1927, 2015.
- VANROBAYS, M.L., BASTIN, C., VANDENPLAS, J., HAMMAMI, H., SOYEURT, H., VANLIERDE, A., DEHARENG, F., FROIDMONT, E., GENGLER, N. Changes throughout lactation in phenotypic and genetic correlations between methane emissions

- and milk fatty acid contents predicted from milk mid-infrared spectra. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.7247-7260, 2016.
- WAGHORN, G.C., CLARK, H., TAUFU, V., CAVANAGH, A. Monensin controlled-release capsules for methane mitigation in pasture-fed dairy cows. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.48, p. 65-68, 2008.
- WAGHORN, G.C., JONKER, A., MACDONALD , K.A. Measuring methane from grazing dairy cows using GreenFeed. **Animal Production Science**, v.56, p.252-257, 2016.
- WIMS, C.M., DEIGHTON, M.H., LEWIS, E., O'LOUGHLIN, B., DELABY, L., BOLAND, T.M., O'DONOVAN, M.,. Effect of pregrazing herbage mass on methane production, dry matter intake, and milk production of grazing dairy cows during the mid-season period¹. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.4976-4985, 2010.