

Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático. Revisión

Enteric methane emission by ruminants and its contribution to global climate change. Review

Jorge Armando Bonilla Cárdenas^a, Clemente Lemus Flores^b

RESUMEN

La producción de metano (CH₄) por los rumiantes se deriva de manera natural del proceso digestivo en estos, pero constituye una pérdida de energía y contribuye a las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI), por lo que ha aumentado el número de investigaciones a fin de reducir la metanogénesis ruminal. Esta última está influenciada por varios factores, entre los que destacan: consumo de alimento, composición y digestibilidad de la dieta y procesamiento previo del alimento. Entre las estrategias para mitigar las emisiones de CH₄ que se han propuesto, la manipulación dietética-nutricional parece ser la de mayor potencial, simplicidad y factibilidad. En aquellos países que han estimado su inventario de GEI, la cantidad de metano es importante y en Nueva Zelanda, por ejemplo, se percibe como urgente la necesidad de que los ganaderos tengan acceso a tecnologías que les permitan reducir las emisiones de GEI de una manera segura y económicamente efectiva. En México se han encontrado diferencias significativas entre los factores propuestos por distintas fuentes, lo que sugiere desarrollar más estudios en las diferentes condiciones climáticas del país. Para desarrollar estrategias para mitigar las emisiones de CH₄ por el ganado, debe ser posible cuantificarlas en una amplia gama de circunstancias, por lo que existen varios métodos tanto para estimarlas como para medirlas. El objetivo de esta revisión es compilar y difundir información sobre la emisión de CH₄ por los rumiantes, sus posibles efectos en el calentamiento y en el cambio climático global, así como las alternativas existentes para su mitigación.

PALABRAS CLAVE: Gases, Efecto invernadero, Metano, Rumiantes.

ABSTRACT

Methane (CH₄) production by ruminants it comes from their natural digestive process but it constitutes an energy loss and it contributes to greenhouse gases (GHG) emissions, therefore more research has been recently focused to reduce ruminal methanogenesis, which is influenced by many factors, some of them are: feed intake, diet composition and digestibility, and previous food processing. Between CH₄ mitigation strategies proposed, dietary-nutritional manipulation it seems the most simple, practical and feasible. In countries where GEI emissions inventories has been estimated, methane quantity it is very important, and for example, in New Zeland, it is perceptible and considered urgent the necessity that farmers have access to technologies to decrease methane emissions in a safe and cost-effective manner. In Mexico it has been found significant differences between factors proposed by different entities, suggesting the development of more studies at different climatic conditions. In order to develop mitigation strategies to methane emissions from livestock it must be possible to quantify them in a wide type of circumstances, and in fact, there are many methods for methane emissions estimation and measurement. The objective of this review is the compilation and diffusion of information about methane emission by ruminants, their effects on global warming and climate change, and actual mitigation alternatives.

KEY WORDS: Greenhouse gases, Methane, Ruminants.

Recibido el 21 de junio de 2010. Aceptado el 18 de enero de 2011.

^a Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. CIRPAC. C.E. Santiago Ixcuintla. Leyes de Reforma 120, Col. Lázaro Cárdenas. 63190 Tepic, Nayarit. Tel. Part. 311 213 2152. Tel. Cel. 311 116 1948. bonilla.jorge@inifap.gob.mx, abonilla@uan.edu.mx. Correspondencia al primer autor.

^b Universidad Autónoma de Nayarit. Red de Ciencia Animal.

Origen del financiamiento: Proyecto CO1/93389 Fomix Nayarit 2008. Fortalecimiento del doctorado CBAP.

INTRODUCCIÓN

El metano (CH₄) es un producto final de la fermentación que sufren los alimentos en el rumen, que en términos de energía constituye una pérdida y en términos ambientales contribuye al calentamiento y al cambio climático global. La investigación en nutrición animal se ha enfocado en su mayor parte a encontrar métodos para reducir las emisiones de CH₄ debido a la ineficiencia energética que ocurre en el rumen, y no por el rol del CH₄ en el calentamiento global. Sin embargo, recientemente se ha prestado más atención a su contribución potencial al cambio climático^(1,2,3).

El CH₄ pertenece al grupo de gases de efecto invernadero (GEI), en el que se encuentran también: bióxido de carbono (CO₂), óxido nitroso (N₂O), hidrofluorocarbonos (HFC), perfluorocarbonos (PFC) y hexafluoruro de azufre (SF₆)⁽⁴⁾. Todos estos gases tienen moléculas con dos o más átomos que se mantienen unidos con suficiente espacio entre sí para poder vibrar cuando absorben calor; eventualmente la molécula que vibra libera radiación y ésta será posiblemente absorbida por otra molécula de GEI. A este proceso de mantener calor cerca de la superficie de la tierra, se le conoce como efecto invernadero. Los GEI son liberados a la atmósfera tanto por fuentes naturales como antropogénicas. La cantidad de GEI liberados mediante la actividad humana se ha incrementado de manera significativa en los últimos años, lo cual está propiciando la amplificación del efecto invernadero natural y el cambio climático global. La agricultura y la producción pecuaria contribuyen ampliamente a las emisiones antropogénicas de CH₄, CO₂ y N₂O a la atmósfera. Por estos motivos se están encaminando esfuerzos a reducir las emisiones y prevenir el calentamiento global, y proteger así el sistema climático natural del planeta, y se considera que los sistemas de producción animal sostenibles deben propender por una menor producción de CH₄^(5,6,7).

La producción de CH₄ en los rumiantes está influenciada por factores como consumo de alimento, composición de la dieta, digestibilidad del alimento, procesamiento previo del alimento y

INTRODUCTION

Methane (CH₄) is a final product of food fermentation in the rumen, which in terms of energy is a loss and in environmental terms, contributes to global warming and global climate change. Research in animal nutrition is mainly focused to find ways to reduce CH₄ emissions, due to energy inefficiency in the rumen, and not by the role of CH₄ in global warming. However; more attention has recently focused to their potential contribution to climate change^(1,2,3).

CH₄ belong with the group of greenhouse gases (GHG), in which there are also: carbon dioxide (CO₂), nitrous oxide (N₂O), hydrofluorocarbons (HFCs), perfluorocarbons (PFCs) and sulfur hexafluoride (SF₆)⁽⁴⁾. All these gases are molecules with two or more atoms that are held together with enough space to be able to vibrate when they absorb heat; eventually the vibrating molecule releases radiation and this will possibly be absorbed by another molecule of GHG. This process of maintaining heat near the Earth's surface is known as a greenhouse. Greenhouse gases are released into the atmosphere both by natural and anthropogenic sources. The amount of greenhouse gases released by human activity has increased significantly in recent years, which is leading to the amplification of natural greenhouse effect and global climate change. Agriculture and livestock production contribute extensively to the anthropogenic emissions of CH₄, CO₂ and N₂O to the atmosphere. Therefore there are leading efforts to reduce emissions and prevent global warming, and protect the natural climate system of the planet, and that sustainable animal production systems must promote lower production of CH₄^(5,6,7).

The CH₄ production in ruminants is influenced by factors such as food intake, diet composition, and feed digestibility, pre-processing of food and feed frequency. Among the strategies to mitigate CH₄ emissions are: reducing the number of ruminant animals, increase the number of non-ruminant animals, genetic manipulation of methanogenic ruminal microorganisms, development of less methanogenic breeds and diet manipulation. The

frecuencia de alimentación. Entre las estrategias para mitigar las emisiones de CH₄ se ha propuesto: reducir el número de animales rumiantes, aumentar el número de animales no rumiantes, manipulación genética de los microorganismos ruminales metanogénicos, desarrollo de razas menos metanogénicas y manipulación dietética-nutricional; esta última parece ser la de mayor potencial en términos de simplicidad y factibilidad. La manipulación nutricional para suprimir la metanogénesis incluye uso de forrajes de alta calidad, alta proporción de granos en la dieta, uso de aditivos (compuestos químicos, ácidos orgánicos, ionóforos, probióticos), dietas ricas en ácidos grasos insaturados, adición de acetógenos, de bacteriocinas, de virus vs *Archaea*, y de extractos vegetales (aceites esenciales), modificación de las prácticas de alimentación y suplementación a dietas basadas en pajas. Estas prácticas de alimentación reducen las emisiones de CH₄ por la modificación de la fermentación ruminal, inhibiendo directamente los metanogénicos y protozoarios, o desviando los iones hidrógeno de los metanogénicos^(8,9). El objetivo de esta revisión es compilar y difundir información sobre la emisión de CH₄ por los rumiantes, sus posibles efectos en el calentamiento y en el cambio climático global, así como las alternativas existentes para su mitigación.

Situación de las emisiones de metano en diversos países

Debido a acuerdos internacionales tales como los protocolos de Montreal y de Kyoto, y las recientes cumbres de Copenhague y Cancún, así como a la existencia de organizaciones gubernamentales y no gubernamentales en todo el mundo, muchos países están realizando acciones encaminadas al control (mitigación) de las emisiones de GEI. La primera acción es determinar el inventario de GEI que cada país emite considerando sus diversas actividades socio-económicas. En el caso de la actividad pecuaria se incluyen la emisión directa de los animales (de origen entérico) y la derivada del estiércol, y generalmente corresponden a CH₄ y NO₂, respectivamente. La metodología para elaborar los inventarios nacionales de GEI es la que recomienda el Panel Intergubernamental para el

latter seems to have the greatest potential in terms of simplicity and feasibility. Handling nutrition to suppress methanogenesis involves use of high quality forage, high proportion of grains in the diet, the use of additives (chemicals, organic acids, ionophores, probiotics), diets rich in unsaturated fatty acids, addition of acetogens, bacteriocinases, virus vs *Archaea* and vegetable extracts (essential oils), modification of diet and supplementation with diets based on straw practices. These feeding practices reduce CH₄ emissions by modification of the ruminal fermentation, by directly inhibiting the methanogenics and protozoa, or diverting the methanogenic hydrogen ions^(8,9). This review aims to collect and diffuse information on the CH₄ emission by ruminants, their potential effects on global warming and global climate change, as well as alternatives for mitigation.

Status of the methane emission in various countries

Due to international agreements such as the Montreal and Kyoto protocols, and the recent summits in Copenhagen and Cancun, as well as to the existence of governmental and non-governmental organizations around the world, many countries are making efforts to control (mitigation) GHG emissions. The first action is to determine the GHG inventory that each country emits, considering their various socio-economic activities. For livestock activity includes the direct emission of animals (of enteric origin) and the derivative of the manure that generally correspond to CH₄ and NO₂, respectively. The methodology for developing national GHG inventories is recommended by the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), which generate estimated inventories⁽¹⁰⁾. Emissions of CH₄ by livestock are estimated using the inventory of livestock, previously defining categories and sub-categories of the animals, since there are species that contribute more than one category of source emissions. The accuracy of the estimate will depend on the level chosen (1, 2 or 3), which depends in turn of the availability and reliability of livestock inventories in each country. For example, if level 2 is selected, there should be availability of reliable information of each animal category, the productivity of these, the quality of

Cambio Climático (IPCC, por sus siglas en inglés), mediante la que se generan inventarios estimados⁽¹⁰⁾. Las emisiones de CH₄ por el ganado se estiman mediante el inventario ganadero, definiendo previamente las categorías y subcategorías de animales, ya que existen especies que contribuyen con más de una categoría de fuente de emisiones. La precisión de la estimación dependerá del nivel que se elija (1, 2 ó 3), lo que depende a su vez de la disponibilidad y confiabilidad de los inventarios ganaderos de cada país. Por ejemplo, si se elige el nivel 2, habrá de disponerse de información confiable de cada categoría de animales, la productividad de estos, la calidad de la dieta y las condiciones de manejo del estiércol, a fin respaldar una estimación más exacta de la ingesta de alimentos y usarla en la estimación de la producción de CH₄. Las mismas estimaciones de ingesta de alimentos deben emplearse para suministrar estimaciones armónicas de las tasas de excreción de estiércol y nitrógeno, para mejorar la exactitud y la coherencia de las emisiones de CH₄ y N₂O producidas por el manejo del estiércol⁽¹¹⁾.

Respecto a la estimación de emisiones de la ganadería en México, se han encontrado diferencias significativas entre los factores propuestos por

the diet and the manure handling conditions, to support a more accurate estimate of food intake and estimate the CH₄ production. The same food intake estimates should be used to provide harmonic estimates of manure and nitrogen excretion rates, to improve the accuracy and consistency of CH₄ and N₂O emissions produced by manure handling⁽¹¹⁾.

On the estimation of emissions from livestock in Mexico, there are significant differences among the factors proposed by González y Ruíz⁽¹²⁾ and the values reported by the IPCC in 1997 and 2000, which suggests that more research in different climatic conditions has to be done⁽¹²⁾. Mexico has presented to the United Nations Framework Convention on Climate Change (UNFCCC) four communications (1997, 2001, 2006 and 2009) that included the inventory of emissions of greenhouse gases (INEGEI). These communications are part of the Mexico commitments to the UNFCCC and also form a breakthrough measures to study, mitigate and adapt to the global phenomena of climate change. The mitigation of GHG emissions is an obligation to the UNFCCC⁽¹³⁾. Table 1 shows a summary of three recent Mexico GHG inventories⁽¹⁴⁻¹⁷⁾.

Cuadro 1. Inventario de gases de efecto invernadero en México desglosado por tipo de gas y por sector (gigagramos de equivalentes de CO₂)

Table 1. Greenhouse gases inventory in Mexico by type of gas and by sector (gigagrams of CO₂ equivalent)

	Year and percentage					
	1996	%	2002	%	2006	%
Total emissions*	686,000	100.0	643,183	100.0	711,650	100.0
CO ₂	514,047	75.0	480,409	74.0	492,862	69.3
CH ₄	157,648	23.0	145,586	23.0	188,036	26.4
NO ₂	14,422	2.0	12,343	2.0	20,511	2.0
Energy	364,189	53.0	389,497	61.0	430,097	60.4
Waste	61,710	9.0	65,584	10.0	102,173	14.4
USCUSS**	157,000	22.9	89,854	14.0	70,203	9.9
Industrial Processes	43,121	6.3	52,102	8.0	63,526	8.9
Agriculture	55,674	8.1	46,146	7.0	45,552	6.4

* (14,15,16,17).

** Land use change and Forestry.

González y Ruíz⁽¹²⁾ y los valores reportados por el IPCC en 1997 y en 2000, lo que sugiere desarrollar más estudios en sus diferentes condiciones climáticas⁽¹²⁾. México ha presentado ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC) cuatro comunicaciones (1997, 2001, 2006 y 2009) en las que se incluyó el inventario de emisiones de GEI (INEGEI). Estas comunicaciones forman parte de los compromisos de México ante la CMNUCC y además conforman un avance de las medidas para estudiar, mitigar y adaptarse al fenómeno global del cambio climático. La mitigación de las emisiones de GEI es una obligación asumida ante la CMNUCC⁽¹³⁾. En el Cuadro 1 se muestra un resumen de los tres últimos inventarios de GEI en México⁽¹⁴⁻¹⁷⁾.

A continuación se enuncian estimaciones de algunos países, así como la importancia que en cada uno de estos revisten las emisiones de CH₄ entérico. En Camboya se reportó para 2000 una emisión de 6,244 Gg, en CO₂ eq. El sector agricultura contribuyó con el 27.5 %, correspondiendo a la ganadería junto con los arrozales el 78 % de esta proporción, y el pronóstico para el 2020 es que los valores se incrementarán más del doble; sin embargo se requiere más investigación en el subsector ganadero para estar en capacidad de valorar opciones apropiadas de mitigación⁽¹⁸⁾.

En Colombia la proyección de emisiones de CH₄ de origen pecuario para el 2010 representaría el 70 % de la participación de los GEI, correspondiendo un 95 % las emisiones entéricas del ganado lechero y productor de carne⁽⁷⁾. Las emisiones de CH₄ procedentes de la ganadería China, contribuyen con aproximadamente el 7.2 % de la producción total mundial estimada de CH₄⁽¹⁹⁾. En Japón, con base en la estimación del consumo de materia seca (MS), la emisión total derivada de fermentación entérica fue de 0.375 millones de toneladas anuales⁽²⁰⁾. En Nueva Zelanda las emisiones entéricas de CH₄ por el ganado en pastoreo son la fuente más importante de GEI generados por la agricultura, representando el 31.8 % del total de los GEI emitidos en ese país, y se menciona que existe la urgente necesidad de que los ganaderos neozelandeses tengan acceso

Some estimates in countries, as well as the importance of enteric CH₄ emissions in each of these are: in Cambodia for 2000 was reported an emission of 6,244 Gg in CO₂ eq. The agriculture sector contributed with 27.5 %, corresponding with livestock along with rice fields 78 % of this proportion, and the outlook for 2020, is that the values will increase more than double; however, more research in the livestock subsector is required to be able to assess appropriate mitigation options⁽¹⁸⁾.

In Colombia the projection of CH₄ emissions from livestock origin for 2010 would represent 70 % of the participation of GHG, with 95 % enteric emissions from dairy and beef cattle⁽⁷⁾. CH₄ emissions from China's livestock, contributes about to 7.2 % of the estimated total world production⁽¹⁹⁾. In Japan, based on the estimation of dry matter (DM) consumption, the total emission for enteric fermentation was 0.375 million tons per year⁽²⁰⁾. New Zealand enteric CH₄ emission by grazing livestock are the most important source of GHG generated by agriculture, representing the 31.8 % of all GHG emitted in that country, and there is an urgent need of New Zealand farmers to have access to technologies to reduce these emissions in a secure and cost-effective manner^(21,22,23). The figures in each country are the result of their conditions and prevailing socio-economic activities, but let perceive the problem and establish references to Mexico.

Table 2 shows the number of publications relating to production of enteric CH₄ in ruminants consulted for this review, the country of origin and the percentage that represents the number of publications in each country with respect to the total, which can be an indicator of the research situation at the global level on the subject.

Methanogenic microorganisms

CH₄ is produced in the rumen by a highly specialized group of anaerobic microorganisms. CH₄ production is part of its energy metabolism, and most use CO₂ as the terminal electron acceptor in anaerobic respiration, turning to CH₄; the electron donor used in this process is usually the H₂⁽²⁴⁾. Anaerobic conditions, the absence of light and the

a tecnologías que les permitan reducir estas emisiones de una manera segura y costo-efectiva^(21,22,23). Las cifras en cada país son consecuencia de sus condiciones y actividades socioeconómicas preponderantes, pero permiten percibir la problemática y establecer referencias respecto a México.

En el Cuadro 2 se presenta el número de publicaciones relacionadas con producción de CH₄ entérico en rumiantes consultadas para la presente revisión, el país de origen y el porcentaje que representa el número de publicaciones de cada país respecto al total, lo cual puede ser un indicador de la situación de la investigación a nivel mundial sobre el tema.

Microorganismos metanogénicos

El CH₄ es producido en el rumen por un grupo altamente especializado de microorganismos, los cuales son anaerobios obligados. La producción de CH₄ por estos microorganismos es parte de su metabolismo energético, y la mayoría utilizan CO₂ como su aceptor terminal de electrones en la respiración anaeróbica, convirtiéndolo a CH₄; el donador de electrones utilizado en este proceso es generalmente el H₂⁽²⁴⁾. Las condiciones anaerobias, la ausencia de luz y la presencia de NO₃, S y SO₄ que caracterizan la fermentación de materia orgánica (MO), conducen a la biogénesis de CH₄⁽²⁵⁾. El CH₄ es producido por microorganismos pertenecientes al dominio *Archaea*, que comprende dos reinos: *Euryarchaeaota* (metanogénicos, halófilos extremos y algunos hipertermófilos) y *Crenarchaeota* (originalmente sólo comprendía a los hipertermófilos pero ahora incluye una variedad de miembros no termofílicos)⁽²⁶⁾. Anteriormente se consideraba que los microorganismos metanogénicos pertenecían al dominio *Bacteria*. Algunas de las especies que han sido clasificadas son: *Methanobacterium formicicum*, *M. bryantii*, *M. thermoautotrophicum*, *Methanobrevibacter ruminantium*, *M. arboriphilus*, *M. smithii*, *Methanococcus vannielii*, *M. voltae*, *Methanomicrobium mobile*, *Methanogenium cariaci*, *M. marisnigri*, *Methanospirillum hungatei* y *Methanosarcina barkeri*⁽²⁷⁾. A pesar de su

presence of NO₃, S and SO₄ that characterize the fermentation of organic matter (OM), lead to the CH₄ biogenesis⁽²⁵⁾. CH₄ is produced by microorganisms that belong to the domain Archaea, which comprises two kingdoms: Euryarchaeaota (methanogenic, halophiles ends and some hyperthermophiles) and Crenarchaeota (originally only included the hyperthermophiles, but now includes a variety of not thermophilic members)⁽²⁶⁾. Previously considered that methanogenic microorganisms belong to domain Bacteria. Some of the species that have been classified are: *Methanobacterium formicicum*,

Cuadro 2. Número de publicaciones relacionadas con producción de metano entérico en rumiantes por país y porcentaje respecto al total

Table 2. Number of publications related to enteric methane in ruminants production by country and percentage of the total

Country	Number of publications	%
United States	45	17.5
Canada	37	14.4
New Zealand	25	9.7
Japan	24	9.3
Australia	21	8.2
England	17	6.6
Switzerland	14	5.4
Brazil	10	3.9
India	9	3.5
Spain	8	3.1
Scotland	7	2.7
China	6	2.3
Ireland	6	2.3
France	5	1.9
Mexico	4	1.6
Peru	4	1.6
Argentina	3	1.2
Colombia	3	1.2
Germany	3	1.2
Italy	2	0.8
Belgium	2	0.8
Netherlands	1	0.4
Ukraine	1	0.4
Total:	257	100.0

diversidad morfológica (diferentes formas y estructuras celulares) todos los aislados puros de metanogénicos son únicos debido a que usan sustancias simples para obtener energía y crecer, así como su habilidad para producir CH₄. Debido a la gran diversidad de estructuras orgánicas presentes en la biomasa ruminal, se requiere de un amplio grupo de microorganismos para su fermentación además de los metanogénicos, ya que estos sólo catabolizan un limitado número de sustratos. Así, el complejo de microorganismos convierten los carbohidratos, proteínas y lípidos en fragmentos de menor peso molecular, y estos son utilizados por bacterias acetógenicas (productoras de H) para formar acetato e H, y CO₂, los cuales son utilizados por los metanogénicos^(24,27).

Aunque casi siempre se ha considerado que en el rumen ocurre sólo producción de CH₄, también se ha estudiado la utilización (oxidación) de este gas por microorganismos metanotrofos, resultando que dicha oxidación tiene muy poca importancia cuantitativa en la producción neta de CH₄ por los rumiantes⁽²⁸⁾.

Metodologías empleadas para la medición de metano

A fin de desarrollar estrategias para mitigar las emisiones de CH₄ por el ganado, debe ser posible cuantificarlas en una amplia gama de circunstancias. Las técnicas analíticas para la determinación del CH₄ comprenden: espectroscopia infrarroja, cromatografía de gases, espectroscopia de masa y técnicas de diodo laser⁽¹⁾. Existen también monitores automatizados para la detección de varios gases, entre estos el CH₄. En experimentos para medir las emisiones gaseosas de los rumiantes se han utilizado algunas de las siguientes metodologías e instalaciones:

Calorimetría (cámaras abiertas, cerradas o cámaras de respiración). La producción de CH₄ ha sido medida en circuitos cerrados desde hace poco más de cuatro décadas^(29,30,31). También se han construido cámaras hasta cierto punto rústicas para pequeños rumiantes utilizando materiales e instrumentos de uso común, en las que fue posible identificar diferencias en la producción de CH₄

M. bryantii, *M. thermoautotrophicum*, *Methanobrevibacter ruminantium*, *M. arboriphilus*, *M. smithii*, *Methanococcus vanniellii*, *M. voltae* *Methanomicrobium mobile*, *Methanogenium cariaci*, *M. marisnigri*, *Methanospirillum hungatei* and *Methanosarcina barkeri*⁽²⁷⁾. Despite its morphological diversity (different shapes and cellular structures) all pure methanogenic isolated are unique because they use simple substances to obtain energy and grow, as well as their ability to produce CH₄. Due to the great diversity of organic structures present in the rumen biomass, it requires a large group of microorganisms for fermentation as well as the methanogenic, because these only catalyze a limited number of substrates. Thus, the complexes of microorganisms convert carbohydrates, proteins and lipids to become fragments of lower molecular weight, and these are used by acetogenic bacteria (H producers) to form acetate, H, and CO₂, which are used by the methanogenics^(24,27).

Frequently it has been considered that in the rumen only CH₄ production occurs, using (oxidation) of this gas by methanotrophs microorganisms, has also been studied proving that this oxidation has very little quantitative significance in the CH₄ net production by ruminants⁽²⁸⁾.

Methodologies used for the measurement of methane

To develop strategies to mitigate the emissions of CH₄ by livestock, it must be possible to quantify them in a wide range of circumstances. The analytical techniques for CH₄ determination include: infrared spectroscopy, gas chromatography mass spectroscopy and techniques of diode laser⁽¹⁾. There are also automated monitors for detection of several gases, including CH₄. Experiments to measure gaseous emissions from ruminants have used some of the following methodologies and facilities:

Calorimetry (open, closed or breathing chambers). The CH₄ production has been measured in closed circuit for over four decades^(29,30,31). Also somewhat rustic cameras have been built for small ruminants using common materials and tools, in which it was possible to identify differences in the CH₄ production due to the diet⁽³²⁾. The largest experimental facility in the southern hemisphere

debidas a la dieta⁽³²⁾. Actualmente la mayor instalación experimental en el hemisferio Sur para la medición de emisión de gases por rumiantes se encuentra en las instalaciones de calorimetría animal del AG Grasslands Research Center, localizado en Palmerston North, Nueva Zelanda⁽³³⁾. Otra ventaja de la calorimetría, es que provee información de la variabilidad de las emisiones durante el día por animal y entre animales⁽³⁴⁾.

Uso de gases trazadores. Esta técnica se fundamenta en la liberación de una cantidad conocida del gas trazador contenido en un tubo pre calibrado permeable colocado en el rumen, y la medición subsecuente de la relación de este gas en muestras representativas de aire expirado por los animales en prueba. Los gases trazadores más comúnmente empleados son: hexafluoruro de azufre (SF₆, por sus siglas en inglés). Esta técnica se desarrolló como una alternativa al uso de isótopos. Se coloca una cabezada que sostiene un capilar sobre el morro, a través del cual se colecta muestra de aire expirado y éste es almacenado en un tubo al vacío colocado alrededor del cuello del animal. Posterior a la colección de aire expirado, el tubo se presuriza con nitrógeno y se determinan las concentraciones de SF₆ y CH₄ por cromatografía. Debe conocerse la tasa de liberación del gas antes de su inserción en el rumen⁽³⁵⁾. Debido a la posibilidad de que la tasa de liberación del contenedor permeable afectase la proporción de CH₄:SF₆ en las muestras de aire expirado, se evaluó dicho factor, encontrando que el ratio de las concentraciones molares difirió significativamente ($P < 0.05$), 0.651 *vs* 1.197, cuando la tasa de liberación es baja (10 µl h⁻¹) o alta (20 µl h⁻¹), respectivamente. La producción media de CH₄ calculada con la tasa alta de liberación de SF₆ fue 8.5 % mayor que la calculada con la tasa baja de liberación (12.9 *vs* 11.9 L h⁻¹, respectivamente), aunque esta diferencia ya no fue estadísticamente significativa⁽³⁶⁾. A pesar de lo anterior, esta técnica tiene la ventaja de que puede usarse en condiciones normales de pastoreo y se puede obtener información individual de los animales, lo cual permite efectuar diversos tipos de comparaciones; es una buena herramienta para países cuyas emisiones de CH₄ deriven principalmente de ganado en pastoreo, ya que se

for the measurement of gas emissions by ruminants is on the animal calorimetry of the AG Grasslands Research Center, located in North Palmerstone, New Zealand⁽³³⁾. Another advantage of the calorimetry is that provides information on the variability of the emissions during the day per animal and among animals⁽³⁴⁾.

Use of tracer gas. This technique is based on the release of a known quantity of tracer gas contained in a permeable pre-calibrated tube placed in the rumen, and the subsequent measurement of the ratio of this gas in representative samples of air expired by animals in testing. The most commonly used tracer gases are: sulfur hexafluoride (SF₆). This technique was developed as an alternative to the use of isotopes. A necklace is placed which holds a capillary on the nose, through which a sample of expired air is collected and stored in a vacuum tube placed around the neck of the animal. After the collection of expired air, tube pressurizes with nitrogen and determines the concentrations of SF₆ and CH₄ by chromatography. The release rate of the gas must be known before its inclusion in the rumen⁽³⁵⁾. Due to the possibility that the release of the permeable container rate affected the CH₄:SF₆ proportion, in expired air samples this factor was evaluated, finding the ratio of the molar concentrations differed significantly ($P < 0.05$), 0.651 *vs* 1.197, when the rate of release is low (10 µl h⁻¹) or high (20 µl h⁻¹), respectively. The average production of CH₄ calculated with the high rate of release of SF₆ was 8.5 % greater than the calculated with the low rate of liberation (12.9 *vs* 11.9 L h⁻¹, respectively). However, this technique has the advantage that can be used under grazing normal conditions and individual information of the animals, which allows carrying out various types of comparisons; It is a good tool for countries whose CH₄ emissions derived mainly from livestock grazing, which can get precise estimates of emissions, and develop appropriate mitigation options⁽³⁷⁾. However, tracer gas techniques are associated with greater variation than standardized calorimetric techniques⁽³⁸⁾.

Nitrous oxide (N₂O). N₂O is used as a tracer, which is released at a known rate (about 10 g h⁻¹ of each container). The rate of CH₄ emission from

pueden obtener estimados precisos de las emisiones y desarrollar así opciones apropiadas de mitigación⁽³⁷⁾. Sin embargo, las técnicas con gases trazadores están asociadas a mayor variación que las técnicas calorimétricas estandarizadas⁽³⁸⁾.

Oxido nitroso (N₂O). El N₂O se usa como trazador, el cual es liberado a una tasa conocida (aproximadamente 10 g h⁻¹ de cada contenedor). La tasa de emisión de CH₄ de los animales se determina a partir de la relación de la concentración CH₄:NO₂ y la tasa conocida de liberación del NO₂. Esta metodología es capaz de cuantificar simultáneamente ambos gases en la corriente de aire. Se han hecho ensayos con vacas Holstein en lactancia monitoreándolas continuamente (excepto a la hora del ordeño) durante cuatro días en pequeñas áreas de pastoreo cercadas, realizando al mismo tiempo el monitoreo con SF₆, habiendo obtenido excelente concordancia entre ambas técnicas⁽³⁹⁾.

Colecta directa. En Argentina se ha ensayado una técnica para coleccionar el gas producido en el rumen, mediante una fistula de 2 cm de diámetro, a través de la cual fluye el gas a un contenedor de nylon, tipo globo fijado al lomo, en este caso de una vaca Holstein de 550 Kg. Una vez coleccionado el gas por periodos de 24 h se determina su concentración de CH₄ en intervalos de 6 h. La producción diaria de gas fue en promedio de 911.7 L y la concentración de CH₄ varió de 20 a 32 % y representó en promedio 247 L d⁻¹⁽⁴⁰⁾.

Método micrometeorológico. Estas técnicas son costosas, ya que requieren de una mayor cantidad de equipo para medir la difusividad vertical y horizontal de los gases. Se ha descrito una técnica nueva a cielo abierto denominada espectroscopía infrarroja transformada Fourier (FTIR, por sus siglas en ingles), la cual consiste en que cada animal en el hato lleva un pequeño contenedor con N₂O, fijado en un collar, lo cual implica el uso de un método trazador⁽³⁹⁾.

Independientemente del método empleado, se ha observado que existe variación diaria de la emisión de CH₄ en un mismo animal y entre animales, aun cuando el tipo de alimento y el nivel de consumo

animals is determined by the relationship of the CH₄:NO₂ concentration, and the known rate of NO₂ release. This methodology is able to quantify simultaneously both gases in the air flow. Trials with lactating Holstein cows monitoring them continuously (except when it comes to milking) for 4 d in small fenced grazing areas, performing at the same time the SF₆ monitoring, had obtained excellent concordance between both techniques⁽³⁹⁾.

Direct collection. A technique has been tried in Argentina to collect gas produced in the rumen, through a 2 cm diameter fistula, through which the gas flows in a balloon nylon type container, attached to the back of a 550 kg Holstein cow. Once the gas was collected for a period of 24 h, CH₄ concentration is determined every 6 h. Average daily gas production was 911.7 L and the CH₄ concentration ranged from 20 to 32 % and represented in average 247 L d⁻¹⁽⁴⁰⁾.

Micro-meteorological method. These techniques are costly; they require a greater amount of equipment to measure the horizontal and vertical diffusivity of gases. A new technique to open sky called Fourier Transformed Infrared Spectroscopy (FTIR), is described, in which every animal in the herd takes a small container with N₂O, set in a necklace, which involves the use of tracer method⁽³⁹⁾.

Regardless of method, it has been observed that there is variation in the daily CH₄ emission in the same animal and among animals, even if the type of food and the level of consumption are uniform for long periods. However, the magnitude of such variations (intra and inter-animal), expressed as coefficient of variation is ± 8 % of the amount of CH₄ produced⁽²⁹⁾.

Estimators of methane production

In 1940, an equation was proposed to calculate the CH₄ production in situations where only an approximate value is required: the coefficient of determination of the equation was 0.94 and was based on 100 g of digested carbohydrate⁽⁴¹⁾. With previously reported values of 1.42 and 2.35 mEq of volatile fatty acids (VFA) 100 g of liquid ruminal⁻¹ h⁻¹ for diets based on hay and grain, respectively,

son uniformes durante largos periodos. Sin embargo la magnitud de tales variaciones (intra e inter-animal), expresado como coeficiente de variación es $\pm 8\%$ de la cantidad de CH₄ producido⁽²⁹⁾.

Estimadores de la producción de metano

En 1940 se propuso una ecuación para calcular la producción de CH₄ en aquellas situaciones donde sólo se requiera un valor aproximado: el coeficiente de determinación de la ecuación fue de 0.94 y se basaba en 100 g de carbohidratos digeridos⁽⁴¹⁾. Con valores previamente reportados de 1.42 y 2.35 mEq de ácidos grasos volátiles (AGV´s), 100 g de líquido ruminal⁻¹ hora⁻¹ para dietas a base de heno y de grano, respectivamente, se calculó teóricamente la cantidad de CH₄ producido: 187 y 312 L de CH₄ para la dieta de heno y de grano, respectivamente⁽⁴²⁾. El análisis de varios experimentos en los que se midió la emisión de CH₄ a partir de distintos tipos de dietas (forrajes, mixtas y pelletizadas), indicó que en cada tipo de dieta con un consumo a nivel de mantenimiento, la producción de CH₄ se incrementó a medida que aumentó la digestibilidad aparente de ésta; la producción media de CH₄ fue de 8.07 Kcal por cada 100 Kcal ingeridas, con una escala de 6.2 a 10.8, correspondiendo el valor más bajo a pasto festuca pelletizado y el más alto a pulpa de remolacha como alimento único⁽²⁹⁾.

En trabajos para evaluar la exactitud de siete ecuaciones previamente publicadas para predecir la producción de CH₄ en vacas Holstein lactantes y no lactantes, procedentes de 16 experimentos, se encontraron diversos grados de desviación entre éstas, y se concluyó que la ecuación de Moe and Tyrrel⁽⁴³⁾ fue la más exacta y precisa, y debido a que ésta considera el consumo de fracciones de carbohidratos relativamente fáciles de obtener (celulosa, hemicelulosa y carbohidratos no fibrosos), la hacen factible de utilizar por nutricionistas y ambientalistas para la predicción y monitoreo de la reducción de las emisiones de CH₄ por rumiantes⁽⁴⁴⁾. Sin embargo, otros autores señalan que la limitante al emplear ecuaciones como la de Moe and Tyrrel⁽⁴³⁾, radica en la dificultad de obtener variables confiables para introducirlas en

theoretically the amount of CH₄ produced was calculated: 187 and 312 L for the diet of hay and grain, respectively⁽⁴²⁾. The analysis of several experiments that measured the CH₄ emission from different types of diets (forages, mixed and pelletized), showed that in every kind of diet with a consumption at the maintenance level, CH₄ production increased as its the apparent digestibility increased; the average CH₄ production was 8.07 Kcal for each 100 ingested Kcal, with a range of 6.2 to 10.8, corresponding the lower value to festuca pellet grass and the highest to beet pulp as the unique food⁽²⁹⁾.

In a work to assess the accuracy of seven previously published equations to predict the production of CH₄, from 16 experiments of lactating and dry Holstein cows, varying degrees of deviation among these there was found, and concluded that the Moe and Tyrrell-equation⁽⁴³⁾ was the most accurate and precise, and because carbohydrate intake fractions are relatively easy to obtain (cellulose, hemicellulose and not fibrous carbohydrates), make it feasible to use by nutritionists and environmentalists for the prediction and monitoring of the reduction of CH₄ emissions from ruminants⁽⁴⁴⁾. However, other authors point out that the limitation to use equations of Moe and Tyrrell⁽⁴³⁾, lies in the difficulty of obtaining reliable variables to insert into the model, and they proposed prediction equations for dairy and beef cattle, based on an analysis of 29 articles published from 1964 to 2005, and showed better prediction and greater ease of use for the purposes for estimating national inventories of CH₄ emissions⁽⁴⁵⁾. The production values of CH₄ used to calculate the total inventory of enteric CH₄ from ruminants, adult sheep (older than one year), dairy cattle and deer are: 20.9, 21.6 and 21.5 g CH₄ kg DM consumed⁻¹; however when experimentally measured, the conflicting values were 18.4, 20.6 and 16.5 g, fed based in ensiled alfalfa. The differences were mainly attributed to the consumption of DM, which was 0.048, 0.046 to 0.060 kg kg^{0.75-1}, for the three species respectively. The total production of CH₄ was 140.4, 31.5 and 18.3 g day⁻¹ for cattle, deer and sheep, respectively, so it was concluded that the differences in the digestive process and physiology of microbial populations among ruminants may be responsible for the differences in the CH₄ production⁽²²⁾.

el modelo, y propusieron ecuaciones de predicción de producción de CH₄ para ganado lechero y de carne, basadas en el análisis de 29 artículos publicados entre 1964 y 2005, las cuales mostraron mejor predicción y mayor facilidad de uso para efectos de estimar inventarios nacionales de emisiones de CH₄⁽⁴⁵⁾. Los valores de producción de CH₄ que se usan para calcular el inventario total de CH₄ entérico de rumiantes, para ovinos adultos (mayores de un año), para ganado lechero y para venados son de: 20.9, 21.6 y 21.5 g de CH₄ kg de MS consumida⁻¹, sin embargo cuando se ha medido experimentalmente, los valores encontrados fueron de 18.4, 20.6 y 16.5 g, alimentados con base en alfalfa ensilada. Las diferencias se atribuyeron principalmente al consumo de MS, que fue de 0.060, 0.046 y 0.048 kg kg^{0.75} ⁻¹ para las tres especies, respectivamente. La producción total de CH₄ fue de 140.4, 31.5 y 18.3 g día⁻¹ para ganado, venados y ovinos, respectivamente, por lo que se concluyó que las diferencias en el proceso digestivo y en la fisiología de las poblaciones microbianas entre rumiantes pueden ser las responsables de las diferencias en la producción de CH₄⁽²²⁾.

La producción de CH₄ en rumiantes alimentados con base en forraje puede ser predicha adecuadamente por sencillas incubaciones *in vitro*, combinando la degradabilidad verdadera del sustrato y las mediciones de producción de gas, siempre y cuando se conozca el consumo de alimento⁽⁴⁶⁾. Al efectuar regresiones entre la composición química, la digestibilidad y el consumo de una amplia gama de dietas para ganado de ambos sexos y la producción de CH₄, a niveles de consumo desde uno hasta tres veces el requerimiento de energía para mantenimiento, se encontró que la relación más alta ($r^2=0.896$) estuvo dada por el consumo de nutrientes digestibles, expresada por la ecuación: $y = 1.62 x_1 - 0.38 x_2 + 3.78 x_3 + 1.49 x_4 + 1142$, donde y = energía del CH₄ (kJ), x_1 = proteína cruda digestible (g), x_2 = grasa cruda digestible, x_3 = fibra cruda digestible, y x_4 = extracto libre de nitrógeno digestible. Se puede notar en esta ecuación que con excepción de la grasa cruda digestible, todos los factores influyen significativamente ($P < 0.05$) la producción de CH₄⁽⁴⁷⁾.

In ruminants forage fed based, CH₄ production can be adequately predicted by simple *in vitro* incubations, combining the true degradability of the substrate and measurements of gas production, if feed intake is known⁽⁴⁶⁾. Regressions among the chemical composition, digestibility and the feed intake of a wide range of diets for cattle of both sexes, and CH₄ production, to feed intake levels from one to three times of the energy requirements for maintenance, it was found that the highest relation ($r^2 = 0.896$) was given by digestible nutrient intake, expressed by the equation: $y = 1.62 x_1 - 0.38 x_2 + 3.78 x_3 + 1.49 x_4 + 1142$, where y = energy of CH₄(kJ), x_1 = digestible crude protein (g), x_2 = digestible raw fat, x_3 = digestible crude fiber, and x_4 = digestible nitrogen-free extract. In this equation may be noted that except for the digestible crude fat, all factors significantly influence ($P < 0.05$) CH₄ production⁽⁴⁷⁾.

Expression units of the amount of methane produced. The amount of CH₄ produced by enteric fermentation in ruminants has been expressed in different ways in the literature: Kcal (contained in CH₄) 100 Kcal in the ingested food ⁻¹; g day⁻¹; (g) h⁻¹; g kg body weight⁻¹; (g) kg^{0.75} ⁻¹; g kg DM consumed⁻¹; g kg DM digested⁻¹; g kg OM⁻¹; g kg OM digested⁻¹; % of gross energy; % of digestible energy and g kg milk corrected to fat⁻¹. The production of CH₄ per unit of animal product, for example g kg of weight gain⁻¹, is an appropriate index to compare the emission of greenhouse gases by cattle with different feeding conditions⁽⁴⁸⁾. To convert grams of CH₄ in percentage of the gross energy consumed, the IPCC suggests food gross energy values of 18.45 MJ kg⁻¹ and a CH₄ energy value of 55.65 MJ kg⁻¹, with which it has been estimated that CH₄ values for sheep and dairy cattle are 20.9 and 21.6 g kg DM consumed⁻¹ and correspond with 6.3 and 6.5 % of gross energy consumed respectively⁽⁴⁹⁾.

Amount of methane produced by ruminants in different conditions and factors involved

Historically, in tests carried out at the end of the 19th century, which emulsified peanut oil was added to the diet, no decrease in apparent digestibility or

Unidades de expresión de la cantidad de metano producido. La cantidad de CH₄ producido por la fermentación entérica en rumiantes ha sido expresado de diferentes maneras en la literatura: Kcal (contenidas en el CH₄) 100 Kcal en el alimento ingerido⁻¹; g día⁻¹; g h⁻¹; g kg de peso corporal⁻¹; g kg^{0.75} ⁻¹; g kg MS consumida⁻¹; g kg MS digerida⁻¹; g kg MO⁻¹; g kg MO digerida⁻¹; % de la energía bruta; % de la energía digestible y g kg de leche corregida a grasa⁻¹. La producción de CH₄ por unidad de producto animal, por ejemplo g kg de ganancia de peso⁻¹, es un índice adecuado para comparar la emisión de GEI por el ganado con distintas condiciones de alimentación⁽⁴⁸⁾. Para convertir gramos de CH₄ en porcentaje de la energía bruta consumida, el IPCC sugiere valores de energía bruta de los alimentos de 18.45 MJ kg⁻¹ y un valor energético del CH₄ de 55.65 MJ kg⁻¹, con los cuales se ha calculado que los valores para ovinos y ganado lechero son de 20.9 y 21.6 g de CH₄ kg de MS consumida⁻¹ y corresponden al 6.3 y 6.5 % de la energía bruta consumida, respectivamente⁽⁴⁹⁾.

Cantidad de metano producido por rumiantes en diferentes condiciones y factores que intervienen

Históricamente, en ensayos realizados a finales del siglo XIX, en los que se adicionó a la dieta aceite emulsificado de cacahuete, no se encontró disminución en la digestibilidad aparente ni en la producción de CH₄, pero al usar el aceite sin emulsificar disminuyeron tanto la digestibilidad aparente como la producción de CH₄; en un animal este último fue 53 % menor que su valor inicial⁽⁵⁰⁾. Posteriormente, en 1915 se reportaron valores de 4.8 y de 4.7 g de CH₄ producido por cada 100 g de carbohidratos digeridos ofrecidos en forma de forrajes, o una mezcla de forrajes y concentrado, respectivamente; y en 1919 se reportó una producción de CH₄ de 4.29 g por cada 100 g de carbohidratos digeribles por encima del nivel de mantenimiento. Un valor de 4.4 g de CH₄ por cada 100 g de carbohidratos digeridos de heno de sudán fue reportado en 1945. En ese mismo año se midió experimentalmente una tasa diaria de producción de CH₄ de 180 L día⁻¹ en vacas secas con raciones de mantenimiento y de 280 L día⁻¹ en vacas lactantes con dietas de producción⁽⁴²⁾.

in the CH₄ production was found, but using the oil without emulsification declined both, apparent digestibility and CH₄ production; in one animal, this last was 53 % lower than its initial value⁽⁵⁰⁾. Later, in 1915 CH₄ values of 4.8 and 4.7 g were reported produced by every 100 g of digested carbohydrates offered in form of fodder or a mix of forages and concentrate feed, respectively, and in 1919 CH₄ production from 4.29 g per each 100 g of digestible carbohydrate above the level of maintenance was mentioned. A value of 4.4 g of CH₄ per each 100 g of digested carbohydrates in Sudan hay was reported in 1945. In that same year a daily rate production of CH₄ from 180 L d⁻¹ was experimentally measured in dry cows with maintenance rations and 280 L d⁻¹ in lactating cows with production diets⁽⁴²⁾.

Variation during the day. In lactating Holstein cows, fed on total mixed ration (TMR), after each offer (0700 and 1600), the CH₄ emission (and CO₂) rose sharply, to descend gradually up to it's lowest around 0530, just before serving the ration again⁽⁵¹⁾. The same pattern was observed in sheep in finalization, fed twice a day, in which the peak of CH₄ happened between 2 and 3 h after food offer, and then a slow decline until the next meal⁽⁵²⁾.

Species and age. The CH₄ produced at maintenance level was similar in both, bovines and sheep, when seven different diets were offered⁽²⁹⁾. In young Murray buffaloes fed based on fresh forage maize and silage maize, supplemented with 1 kg animal⁻¹ d⁻¹, an average CH₄ production from 86.6 ± 4.7 g animal⁻¹ d⁻¹ was found⁽⁵³⁾. In sheep and cattle under one year of age, CH₄ production, is between 17 and 20 % lower than in adults, informations to consider when values of adult animals are applied generally to the livestock inventory of a country, at the time of preparation of national GHG inventories. In red deer from weaning to one year of age in rotational grazing of *Lolium perenne* and *Trifolium repens*, CH₄ production increased with age, from 24.6 to 40.1 g animal⁻¹ d⁻¹, in deers of 4.5 and 11.5 mo old, respectively, and from 32.8 and 32.3 g anim⁻¹ d⁻¹ for 6.5 and 9 mo, respectively⁽⁵⁴⁾. Holstein and Charolais x Simmental heifers 310 kg

Variación durante el día. En vacas Holstein en producción, estabuladas, alimentadas con ración total mezclada (RTM), se observó que después de cada oferta de ésta (07:00 y 16:00), la emisión de CH₄ (y de CO₂) se elevó abruptamente, para luego descender paulatinamente hasta su valor más bajo alrededor de las 05:30, justo antes de servir de nuevo la ración⁽⁵¹⁾. El mismo patrón se observó en ovinos en finalización, alimentados dos veces al día, en los que el pico de producción de CH₄ ocurrió entre las dos y tres horas pos alimentación y luego un descenso lento hasta antes de la próxima comida⁽⁵²⁾.

Especie y edad. Al ofrecer siete dietas distintas tanto a bovinos como a ovinos, no se encontraron diferencias significativas entre las dos especies en la cantidad de CH₄ producido, a un nivel de mantenimiento⁽²⁹⁾. En búfalos Murray jóvenes alimentados con base en forraje fresco de maíz y maíz ensilado, suplementado con 1 kg animal⁻¹ d⁻¹, se encontró una producción de CH₄ promedio de 86.6 ± 4.7 g animal⁻¹ d⁻¹⁽⁵³⁾. En ovinos y en bovinos menores de un año la producción de CH₄ es entre 17 y 20 % menor que en adultos, lo cual tiene implicaciones al considerar valores de animales adultos y aplicarlos de manera general al inventario ganadero de un país, al momento de elaborar los inventarios nacionales de GEI. En ciervos rojos del destete al año de edad, en pastoreo rotacional de *Lolium perenne* y *Trifolium repens*, la producción de CH₄ se incrementó con la edad, de 24.6 a 40.1 g anim⁻¹ d⁻¹ en ciervos de 4.5 y 11.5 meses, respectivamente, y 32.8 y 32.3 g anim⁻¹ d⁻¹ a los 6.5 y 9 meses, respectivamente⁽⁵⁴⁾. Al comparar la producción de CH₄ de vaquillas de 310 kg de peso vivo promedio, Holstein y Charolais x Simmental, alimentadas con varias dietas, los valores fueron similares, 238.0 vs 228.6 L d⁻¹, ($P > 0.05$)⁽⁵⁵⁾.

Nivel de consumo. De manera general, a medida que el consumo diario de alimento se incrementa, el porcentaje de energía bruta que se pierde como CH₄ se reduce. Sin embargo, esto depende a su vez del tipo de alimento, ya que por ejemplo, cuando se ofrecen cantidades limitadas de carbohidratos altamente digestibles, ocurre proporcionalmente una elevada pérdida de CH₄, y

average body weight fed different diets, CH₄ values were 238.0 vs 228.6 L d⁻¹, ($P > 0.05$)⁽⁵⁵⁾.

Level of consumption. In general, as the daily food intake increases, the percentage of gross energy lost as CH₄ is reduced. However, this depends in turn of the type of food; for example, when limited amounts of highly digestible carbohydrates are offered, it occurs proportionally a high loss of CH₄, and *vice versa*, when large amounts of highly digestible carbohydrates are offered, proportionally occurs minor lost of CH₄. The type of carbohydrate affects also the CH₄ production; soluble sugars are less methanogenic than the structural, and also than starch (1.43). With food *ad libitum*, DM consumption was strongly correlated ($P = 0.01$; $r = 0.8$) with the CH₄ production and feed intake contributed 64 % of the daily variation⁽⁵⁵⁾.

Ingredients processing. Grinded and pelleted feed markedly decrease the CH₄ production; however, this effect is not manifested when intake is restricted. It seems that the largest rate of passage that causes these processes is the cause of the decreased production. The ammoniation or low quality forage protein supplementation causes greater loss of CH₄, proportional to the improvement of the digestibility, however, the global loss (per unit of output) would diminish⁽¹⁾.

Type of fermentation in the rumen. The quantity of propionic acid produced and particularly the proportion of this respect to acetic acid is the factor of greatest impact in the CH₄ production. The fermentation of the fiber cell walls result in high acetic: propionic proportion, and therefore greater CH₄ losses⁽¹⁾.

Type, kind and quality of feed

Pastures. Sheep fed *Cichorium intybus* accounted for 37 % less CH₄ d⁻¹ (17.0 g) and 22 % less CH₄ DM kg consumed⁻¹ (24.3 g), that those fed *Lolium perenne* (26.9 and 31.0 g CH₄ d⁻¹ and kg DM consumed⁻¹, respectively). Although this experiment assessed also the effect of reducing methane agents, and showed that it is possible to reduce significantly the CH₄ production in diets based on fresh forage,

viceversa, cuando se ofrecen grandes cantidades de carbohidratos altamente digestibles, ocurre proporcionalmente menor pérdida de CH₄. El tipo de carbohidrato también afecta la producción de CH₄, ya que los azúcares solubles son menos metanogénicos que los estructurales, y que el almidón^(1,43). Con alimentación a libertad, el consumo de MS se correlacionó fuertemente ($P=0.01$; $r=0.8$) con la producción de CH₄, y el consumo aportó el 64 % de la variación diaria⁽⁵⁵⁾.

Procesamiento de los ingredientes. El molido y el peletizado de los forrajes disminuye marcadamente la producción de CH₄; sin embargo, este efecto no se manifiesta cuando el consumo se restringe. Parece ser que la mayor tasa de pasaje que provocan estos procesos, es la causa de la menor producción. La amoniación o suplementación proteínica a forrajes de baja calidad provoca mayor pérdida de CH₄, proporcional al mejoramiento en la digestibilidad, sin embargo, la pérdida global (por unidad de producto) disminuiría⁽¹⁾.

Tipo de fermentación en el rumen. La cantidad de ácido propiónico producida y sobre todo la proporción de ésta respecto a la del ácido acético, es el factor de mayor impacto en la producción de CH₄. La fermentación de las paredes celulares de la fibra resulta en alta proporción acético:propiónico, y por ende mayores pérdidas de CH₄⁽¹⁾.

Tipo, especie y calidad del alimento

Pastos. Ovinos alimentados con *Chicorium intybus* produjeron 37 % menos CH₄ día⁻¹ (17.0 g) y 22 % menos CH₄ kg de MS consumida⁻¹ (24.3 g), que los alimentados con *Lolium perenne* (26.9 y 31.0 g CH₄ día⁻¹ y kg de MS consumida⁻¹, respectivamente). Aunque en este experimento también se evaluó el efecto de agentes metano-reductores, y mostró que es posible disminuir significativamente la producción de CH₄ en dietas con base en forraje fresco, se requiere de mayor investigación para determinar la efectividad de tales agentes en situaciones de pastoreo a largo plazo⁽⁵⁶⁾.

Se ha evaluado el efecto del grado de madurez de heno de *Brachiaria brizantha* cortado a 15, 45 y

further research is required to determine the effectiveness of such agents in situations of grazing in the long term⁽⁵⁶⁾.

The effect of the degree of maturity of *Brachiaria brizantha* hay, cut to 15, 45 and 90 d and offered to Nellore steers was evaluated, without finding effect ($P>0.05$) on CH₄ production (17.38, 23.41 and 20.02 kg DM⁻¹ g, respectively) nor change in the total concentration or the molar ratio of VFA, or pH; only the N-ammoniac decreased as the age to the cut was increased⁽⁵⁷⁾.

Offering forage with high (61.5 %), medium (50.7 %) or low (38.5 %) organic matter digestibility (OMD), consisting of a mixture of legume and grass hay, grass of medium quality hay and grass of low-quality hay, respectively, the CH₄ production increased as the OMD was reduced, with a production of 47.8, 63.7 and 83.2 L kg digestible OM consumed⁻¹ respectively⁽⁵⁵⁾. Even when the increase of the forage digestibility reduces CH₄ emissions, consuming the same kind of grass to get high (ZAD) or low digestibility (ZBD): 816 and 706 g/kg DM, respectively, offered *ad libitum* to crossed Charolais heifers in confinement, it was found that the consumption was greater with ZAD than with ZBD: 7.66 vs 5.38 kg DM d⁻¹. The CH₄ production was higher ($P=0.03$) with ZAD than with ZBD: 193 vs 138 g CH₄ d⁻¹; however, when it was adjusted by DM, DM digestible intake or gross energy intake, the CH₄ production was similar among treatments. Ruminant fermentation and microbial population indicators were not different because the grass digestibility⁽⁵⁸⁾.

Cereal straws. The CH₄ production, as a percentage of the gross energy intake ranged from 4.7 to 6.7, without significantly being affected by chemical treatment to oats, wheat and barley straws, while the volume produced per animal per day increased from 17.8 L in sheep who consumed untreated straw, to 26.2 and 30.1 L in sheep who consumed straw treated with NaOH and NH₃ respectively. However, when CH₄ production was expressed regarding the digestible organic matter (DOM) intake, chemical treatment significantly reduced CH₄ production: control 55.0, NaOH 48.1 and NH₃ 43.7L kg OM apparently digested⁽⁵⁹⁾.

90 días y ofrecido a novillos Nellore, sin encontrar efecto ($P > 0.05$) de la edad al corte sobre la producción de CH_4 , siendo ésta de 17.38, 23.41 y 20.02 g kg MS^{-1} , respectivamente. Tampoco cambiaron la concentración total o la relación molar de AGV's, ni el pH, sólo el N-amoniaco disminuyó conforme la edad al corte se incrementó⁽⁵⁷⁾.

Al ofertar forrajes con alta (61.5 %), media (50.7 %) o baja (38.5 %) digestibilidad de la materia orgánica (DIVMO), consistentes en una mezcla de heno de leguminosa y gramínea, heno de gramínea de mediana calidad y heno de gramínea de baja calidad, respectivamente, se encontró que la producción de CH_4 se incrementó conforme la DIVMO se redujo, correspondiendo una producción de 47.8, 63.7 y 83.2 L $\text{kg MO digestible consumida}^{-1}$, respectivamente⁽⁵⁵⁾. Aún cuando se ha mencionado que incrementar la digestibilidad del forraje reduce las emisiones de CH_4 , al ofrecer el mismo tipo de zacate producido para tener alta (ZAD) o baja digestibilidad (ZBD): 816 y 706 g/kg MS, respectivamente, ofrecidos *ad libitum* a vaquillas encastadas de Charolais en confinamiento, se encontró que el consumo fue mayor con ZAD que con ZBD: 7.66 vs 5.38 kg MS d^{-1} . La producción de CH_4 fue mayor ($P=0.003$) con ZAD que con ZBD: 193 vs 138 g $\text{CH}_4 \text{ d}^{-1}$; sin embargo, cuando se ajustó por el consumo de MS, consumo de MS digestible o consumo de energía bruta, la producción de CH_4 fue similar entre tratamientos. Los indicadores de la fermentación ruminal y la población microbiana tampoco fueron distintos debido a la digestibilidad del pasto⁽⁵⁸⁾.

Pajas de cereales. La producción de CH_4 , como porcentaje de la energía bruta consumida, varió de 4.7 a 6.7, sin ser afectada significativamente por el tratamiento químico a pajas de avena, trigo y cebada, aunque el volumen producido por animal por día se incrementó de 17.8 L en ovinos que consumieron paja sin tratar, a 26.2 y a 30.1 L en ovinos que consumieron paja tratada con NaOH y con NH_3 , respectivamente. Sin embargo, cuando la producción de CH_4 se expresó con relación al consumo de materia orgánica digestible (MOD), el tratamiento químico redujo significativamente la producción de

Legumes. The combination of ryegrass with 30 % white clover or caucasian clover, was between 17 and 24 % lower CH_4 production in lambs, in comparison to feeding only ryegrass⁽⁶⁰⁾. Friesian cows had less CH_4 emission when fed based in *Lotus corniculatus* compared to cows fed with ryegrass silage (26.9 vs 35.1 g of $\text{CH}_4 \text{ kg DM consumed}^{-1}$ and 378 vs 434 g of $\text{CH}_4 \text{ kg of solids in milk}^{-1}$ ⁽⁶¹⁾). Tropical legumes have also depressing effect of methanogenesis; for example, *Leucaena leucocephala* to 25 % of the diet, Stargrass-based (*Cynodon nlemfuensis*) reduced the population of methanogenics with respect to the control (13.98 vs 40.22 x 10⁷ UFC ml^{-1}) without compromising the total population of cellulolytic bacteria⁽⁶²⁾.

Type of concentrate. The use of concentrate high in fiber for grazing dairy cows may be a mitigation strategy, because increases the milk production, and even though the decrease in the CH_4 production does not diminish *per se*, there is a decrease by kg of milk to corrected fat⁻¹⁽⁴⁸⁾.

Production system. Tropical livestock production systems generally have low production rates due to the low quality of the diet, which means that in situations of low feed consumption (because of low passage rate), not only there is a detrimental effect on performance per animal, but also gets more CH_4 emission and therefore less metabolizable energy^(7,63).

Alternatives to reduce the amount of methane emitted by ruminants

As mentioned, there are many factors that affect the CH_4 production, so alternatives to reduce it can target on one factor, a group of these, or to implement a comprehensive set of measures for its control, which will depend to a large extent of the production conditions. The research lines that have been addressed to reduce methanogenesis can be classified into three groups: 1) CH_4 reduction into the rumen indirectly, for example, the defaunation, stimulating propionic fermentation in the rumen, decreasing the amount of structural carbohydrates and increasing the easy fermentation carbohydrates in the diet. 2) Evaluation of products that directly inhibit the methanogenic bacteria; for example, the

CH₄: Testigo 55.0, NaOH 48.1 y NH₃ 43.7 L kg MO aparentemente digerida⁻¹(59).

Leguminosas. La combinación de ryegrass con 30 % de trébol blanco o trébol caucásico, resultó entre 17 y 24 % menor producción de CH₄ en corderos, en comparación a los alimentados con ryegrass solo⁽⁶⁰⁾. Vacas Friesian tuvieron menor emisión de CH₄ cuando se alimentaron con base en *Lotus corniculatus* comparadas con vacas alimentadas con ensilado de ryegrass (26.9 vs 35.1 g de CH₄ kg de MS consumida⁻¹ y 378 vs 434 g de CH₄ kg de sólidos en leche⁻¹(61). Las leguminosas tropicales también tienen efecto reductor de la metanogénesis, ya que por ejemplo, *Leucaena leucocephala* al 25 % de la dieta (con base en pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*), redujo la población de metanogénicos respecto al testigo (13.98 vs 40.22 x 10⁷ UFC ml⁻¹) sin comprometer la población total de bacterias celulolíticas⁽⁶²⁾.

Tipo de concentrado. El uso de concentrados altos en fibra para vacas lecheras en pastoreo puede ser una estrategia de mitigación, debido a que ocurre un incremento significativo en la producción de leche, aun cuando la disminución de la producción de CH₄ no disminuye *per se*, pero sí la producción de CH₄ kg de leche corregida a grasa⁻¹(48).

Sistema de producción. En sistemas de producción ganadera tropicales generalmente se tienen bajos índices productivos debido a la baja calidad de la dieta, lo cual implica que en situaciones de bajo consumo de alimento a causa de baja tasa de pasaje, no solo se tiene el efecto detrimental en el rendimiento por animal, sino también se obtiene mayor emisión de CH₄ y por ende menor aporte de energía metabolizable^(7,63).

Alternativas para reducir la cantidad de metano emitido por rumiantes

Como se ha mencionado, existen numerosos factores que afectan la producción de CH₄, por lo que las alternativas para reducirlo pueden orientarse a uno de los factores, a un grupo de estos, o a implementar todo un conjunto de medidas para su control, lo que dependerá en gran parte de las condiciones de producción. Las líneas de investigación que se han

producción de vacines, using plant extracts, ionophores, specific antibiotics, bacteriophages and bacteriokinases. 3) Evaluation of alternate routes for the use of the H⁺ produced in rumen, with the objective of limiting CH₄ production. Organic acids of propionate precursors have been added, and under research are different acetogenic bacteria that can use H⁺, and CO₂ in the acetate production⁽⁶⁴⁾. On the other hand, the improvement of the nutritional characteristics of forage and carrying out strategic supplementation systems, as the presence of other vegetable stratum in the grazing area (silvopastoral systems), can improve the characteristics of ruminal fermentation, reflected in increased productivity and generally a decrease in CH₄ emissions⁽⁷⁾.

Additives to food. Recently highlighted four main objectives for using additives to optimize the rumen function: 1) Reduce the CH₄ production in favor of the propionate to improve the energy balance of the animals, 2) Reduce the degradation of proteins to increase the bioavailability of amino acids in the intestine, 3) Reduce the rate of degradation of rapidly fermentable carbohydrates (starch, sucrose) and control the concentration of lactic acid, 4) Improve the fiber digestion. The antibiotic ionophores cover most of these targets in the rumen⁽⁶⁵⁾.

Ionophores: Sodium monensin. Several investigations in the decade of the 80s reported that monensin decreased CH₄ production from modest, to up to 25 % values, although it was later found that the reduction period is short, and in 2 wk, levels return to baseline values, so the results seemed more related to the reduction in feed intake and non-direct effect in methanogenesis⁽¹⁾. However, in 2004 it was reported that monensin (33 mg kg DM⁻¹) fell by 9 % loss of gross energy in the form of CH₄ in growing calves fed diets based on barley silage⁽⁶⁶⁾. In sheep fed on fresh grass (*Lolium perenne* and *Cichorium intybus*), the addition of 15 mg d⁻¹ monensin reduced CH₄ emissions⁽⁵⁶⁾. There has been a sustained reduction of 7 % in CH₄ emissions for 6 mo in dairy cows with 24 mg monensin kg of DM⁻¹ provided *ad libitum*, consisting of 60:40 forage TMR: concentrated, so this could be a strategy to reduce the CH₄ production in Holstein lactating cows⁽⁶⁷⁾. When

abordado para reducir la metanogénesis se pueden clasificar en tres grandes grupos: 1) Disminución de CH₄ en el rumen indirectamente, por ejemplo, la defaunación, estimulando la fermentación propiónica en el rumen, disminuyendo la cantidad de carbohidratos estructurales y aumentando la de carbohidratos de fácil fermentación en la dieta. 2) Evaluación de productos que inhiben directamente a las bacterias metanogénicas; por ejemplo, la producción de vacunas, utilizando extractos de plantas, ionóforos, antibióticos específicos, bacteriófagos y bacteriocinas. 3) Evaluación de vías alternas para la utilización del H⁺ producido en rumen, con el objetivo de limitar la producción de CH₄. Se han adicionando ácidos orgánicos precursores del propionato y se investigan diferentes bacterias acetogénicas que pueden usar H⁺ y CO₂ en la producción de acetato⁽⁶⁴⁾. Por otra parte, el mejoramiento de las características nutricionales del forraje y la implementación de sistemas estratégicos de suplementación, como la presencia de otros estratos vegetales en el área de pastoreo (sistemas silvopastoriles), pueden mejorar las características de la fermentación ruminal, reflejándose en mayor productividad y generalmente en una disminución en las emisiones de CH₄⁽⁷⁾.

Aditivos al alimento. Recientemente se han destacado cuatro objetivos principales al usar aditivos para optimizar la función ruminal: 1) reducir la producción de CH₄ a favor del propionato para mejorar el balance energético de los animales, 2) disminuir la degradación de las proteínas para incrementar la biodisponibilidad de aminoácidos en el intestino delgado, 3) reducir la tasa de degradación de los carbohidratos rápidamente fermentables (almidón, sacarosa) y controlar la concentración de ácido láctico, y 4) mejorar la digestión de la fibra. Los antibióticos ionóforos cubren la mayoría de estos objetivos en el rumen⁽⁶⁵⁾.

Ionóforos: Monensina sódica. En varias investigaciones en la década de los 80s se reportó que la monensina sódica disminuía la producción de CH₄ desde valores modestos hasta un 25 %, aunque posteriormente se encontró que el periodo de reducción es corto, y que a las dos semanas los niveles retornan a los valores iniciales, por lo que

using monensin on controlled-release capsules (274 ± 0.72 mg d⁻¹) dairy cows fed based on ryegrass and grain, found no effect of the ionophore in the CH₄ production in grazing, or in respiration chambers, being perhaps required a higher dose⁽⁶⁸⁾.

Yeast. The use of active dry yeast as additives to improve feed efficiency, productive performance and animal health has been increased; however, there is little information on the effect of yeast on hydrogen transfer mechanisms and methanogenesis⁽⁶⁹⁾. There is no effect of *Saccharomyces cerevisiae* addition on CH₄ production, being only 3 % lower in animals that received the yeast, vs the control⁽⁶⁶⁾. Assessing three commercial additives of yeast (*S. cerevisiae*) on the *in vitro* production of CH₄ to 72 h, using alfalfa as substrate, no difference was found ($P > 0.05$) between three treatments respect to a control in the CH₄ production, the total concentration of bacteria, or in N-NH₃, concluding that using only forage as substrate, yeast had no effect on the CH₄ production, although this may have been due to the dose used and the yeast strain⁽⁷⁰⁾. However, reported reductions up to 58 %, corresponds to a strong effect of the strain used, thus requiring further research of the effect of the yeast in the ruminal CH₄ emission control⁽⁶⁹⁾. Legume (*L. leucocephala*) based pastures combined with yeast, *S. cerevisiae* alone, decreased 12.3 % CH₄ emissions and 17.2 % when the yeast plus 20 % of *L. leucocephala* was offered⁽⁷¹⁾.

Lipids. While fat is added to increase the energy density of the diet, to increase milk yield or to modify its fatty acid (FA) profile, its addition impacts in the loss of CH₄ by several mechanisms, including the biohydrogenation of unsaturated FA, increased production of propionic acid and inhibition of protozoa, are therefore an option to alter the CH₄ production^(1,50,72).

Animal fats. The inclusion of beef tallow (34 g of fat kg DM⁻¹) in diets based on barley silage for growing Angus heifers, decreased by 14 % CH₄ emissions, without reducing feed intake, but the digestibility of the NDF in total tract (-15 %), compared with the control diet was reduced. The

la reducción en la producción de CH₄ por ionóforos parecía más relacionada con la reducción en el consumo de alimento y no con un efecto directo en la metanogénesis⁽¹⁾. Sin embargo, los estudios al respecto han continuado y en 2004 se reportó que la monensina (33 mg kg MS⁻¹) disminuyó en 9 % la pérdida de energía gruesa en forma de CH₄ en becerros en crecimiento alimentados con dietas basadas en ensilado de cebada⁽⁶⁶⁾. En ovinos alimentados con pastos frescos (*Lolium perenne* y *Chicorium intybus*), la adición de 15 mg de monensina sódica día⁻¹ redujo las emisiones de CH₄⁽⁵⁶⁾. Se ha observado una reducción sostenida del 7 % en la emisión de CH₄ durante seis meses en vacas lecheras dosificadas con 24 mg de monensina kg de MS⁻¹ ofrecida *ad libitum*, consistente en RTM 60:40 forraje:concentrado, por lo que ésta podría ser una estrategia para reducir la producción de CH₄ en vacas Holstein en producción⁽⁶⁷⁾. Al usar monensina en cápsulas de liberación controlada (274 ± 0.72 mg d⁻¹) en vacas lecheras alimentadas con base en ryegrass y grano, no se encontró efecto del ionóforo en la producción de CH₄ ni en pastoreo, ni en las cámaras de respiración, siendo quizás necesaria una dosis mayor⁽⁶⁸⁾.

Levaduras. El uso de levaduras secas activas como aditivos para mejorar la eficiencia alimenticia, el comportamiento productivo y la salud animal se ha venido incrementado; sin embargo, existe poca información del efecto de las levaduras sobre los mecanismos de transferencia del hidrógeno y sobre la metanogénesis⁽⁶⁹⁾. No se ha encontrado efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la producción de CH₄, siendo sólo 3 % menor en los animales que recibieron la levadura, respecto al testigo⁽⁶⁶⁾. Al evaluar tres aditivos comerciales de levaduras (*S. cerevisiae*) sobre la producción de CH₄ *in vitro* a 72 h, usando alfalfa como sustrato, no se encontró diferencia ($P > 0.05$) entre los tres tratamientos respecto al testigo en la producción de CH₄, en la concentración de bacterias totales, ni en el N-NH₃, concluyendo que al utilizar únicamente forraje como sustrato, las levaduras no tuvieron efecto sobre la producción de CH₄, aunque esto pudo deberse a la dosis usada y a la cepa de levadura⁽⁷⁰⁾. Por otra parte, se han reportado

addition of 3 % of lipids to high forage diets reduces CH₄ emission and it could have substantial effect on CH₄ inventory if adopted at the commercial level, but sources of fats that have potential for application in field must carefully choose, because although the tallow and sunflower seeds are cheaper than sunflower oil, its effectiveness to reduce emissions must also take into account the potentially negative effects on digestible energy consumption and cattle performance fed diets high in forages⁽⁷³⁾.

Vegetable fats. Adding *in vitro* palm oil, coconut oil, and oil canola in doses of 5 % of the DM, reduced by 34, 21, and 20 % CH₄ production⁽⁷⁴⁾. In sheep, the addition of 3.5 and 7 % of coconut oil reduced methanogenesis in 28 and 73 %, respectively⁽⁷⁵⁾. In sheep fed fresh forage of *Lolium perenne* or *Cichorium intybus*, and adding 3 % coconut oil, decreased significantly CH₄ production 25.1 and 24.5 g animal⁻¹ d⁻¹ for control and coconut oil, respectively⁽⁵⁶⁾. Supplementation with coconut oil, to silage maize, grass hay-based diets and concentrated, reduced by 26 % production of CH₄ kg live⁻¹ weight⁻¹ in sheep *vs* the control diet, while with turnip, sunflower and flax seed, the reduction was 19, 27 and 10 %, respectively⁽⁷⁶⁾. The addition of 5 % of sunflower oil to a high forage diet, decreased by 22 % CH₄ production with respect to the control; however, NDF digestibility in total tract decreased 20 %⁽⁶⁶⁾. The use of cotton seed and canola as a source of fat to diets for lactating cows, did not affect the CH₄ emission, although there was a tendency to increase the milk production efficiency per unit of issued CH₄, for which the use of seed oil from unsaturated fats was not effective to reduce the CH₄ emission⁽⁷⁷⁾.

Fatty acids: Capric acid (C_{10:0}). The addition of 10, 20 or 30 mg to 0.5 g of a standard concentrated for dairy cattle and its incubation *in vitro*, caused inhibition in methanogenesis and to a greater dose of capric acid, greater inhibition (-85 to -34 % with 30 and 20 mg doses, respectively), without effect with the 10 mg dose, but assessment *in vivo* to point out its effect antimethanogenic is required⁽⁷⁸⁾.

Lauric acid (C₁₂). It has been shown *in vivo* that the lauric acid is more powerful to suppress CH₄

reducciones hasta del 58 %, lo cual corresponde a un fuerte efecto de la cepa utilizada, por lo que se requiere de mayor investigación del efecto de las levaduras en el control de las emisiones ruminales de CH₄⁽⁶⁹⁾. Al combinar la levadura más una leguminosa (*L. leucocephala*) en la dieta, se encontró una disminución de 12.3 % en la emisión de CH₄ al incluir solamente *S. cerevisiae* y de 17.2 % cuando se ofreció la levadura más 20 % de *L. leucocephala*⁽⁷¹⁾.

Lípidos. Si bien se adicionan grasas para incrementar la densidad energética de la dieta, para aumentar la producción de leche o para modificar su perfil de ácidos grasos (AG), su adición a las dietas para rumiantes impacta en la pérdida de CH₄ por varios mecanismos, incluyendo la biohidrogenación de AG insaturados, mayor producción de ácido propiónico e inhibición de protozoarios, por lo que son una opción para alterar la producción de CH₄^(1,50,72).

Grasas animales. La inclusión de sebo de res (34 g de grasa kg MS⁻¹) en dietas con base en ensilado de cebada para vaquillas Angus en crecimiento, redujo en 14 % la emisión de CH₄, sin reducir el consumo de alimento, pero sí la digestibilidad de la FDN en el tracto total (-15 %), comparado con la dieta testigo. La adición de 3 % de lípidos a dietas altas en forrajes disminuye la emisión de CH₄ y podría tener efecto sustancial en los inventarios de CH₄ si se adopta a nivel comercial, pero habrán de elegirse aquellas fuentes de grasas que tengan potencial de aplicación en campo, ya que aunque el sebo y las semillas de girasol sean de menor costo que el aceite de girasol, su efectividad como estrategia para abatir las emisiones debe tener también en cuenta los efectos potencialmente negativos en el consumo de energía digestible y en el comportamiento de ganado alimentado con dietas altas en forrajes⁽⁷³⁾.

Grasas vegetales. La adición *in vitro* de aceite de palma, aceite de coco, y aceite de canola en dosis del 5 % de la MS, redujo en 34, 21 y 20 % la producción de CH₄⁽⁷⁴⁾. En ovinos, la adición de 3.5 y 7 % de aceite de coco redujo la metanogénesis en 28 y 73 %, respectivamente⁽⁷⁵⁾. En ovinos

production in total tract (-68 %), than the myristic acid (-49 %)⁽⁷⁹⁾. These same authors found a curvilinear decrease when increasing the proportion of C₁₂ in a mixture of C₁₂/C₁₄, added to *in vitro* ruminal liquid. The reduction in CH₄ production in 24 h was 50 % when 10 mg of C₁₂ and 20 mg of C₁₄ were added, and a reduction of 87 % when 15 mg each were added, and 96 % when the proportion was 20 mg of C₁₂ and 10 mg C₁₄. The population of Archaea declined almost linearly to increase the proportion of C₁₂.

Myristic acid (C_{14:0}). From the saturated FA, medium chains (C8-C16) are those who have greater potential to suppress ruminal methanogenesis. The addition of 5 % of myristic acid to the TMR of cows in production, reduced (*P*<0.05) in 36 % CH₄ production: 608 vs 391 L animal⁻¹ d⁻¹ for the control diet and myristic acid, respectively. The CH₄ produced in each of the treatments was equivalent to 23.0 and 14.8 MJ, respectively. Concomitantly, there was a trend towards the reduction in the DM intake, in milk yield and decreased (*P*<0.05) fat milk⁽⁷²⁾.

Oleic (C_{18:1}), (C_{18:2n-6}) linoleic, linolenic (C_{18:3n-3}), palmitic (C₁₆) acids and ethyl-linolenato. It has been proposed that the addition to hydrogen acceptors the rumen different to CO₂, would reduce CH₄ production. Experiments were conducted, in which the infusion of oleic acid, linoleic and linolenic acid reduced CH₄ production in 13.8, 14.2 and 16.4 Kcal in the form of CH₄ per 100 Kcal of oleic acid, linoleic and linolenic, respectively⁽⁵⁰⁾. Depression in the production of CH₄ tended to increase as the insaturación of the FA increased. When palmitic acid is instilled, the CH₄ production was reduced considerably, which confirmed that the effect of long-chain FA in the CH₄ production is considerable but not totally dependent on its instauración⁽⁵⁰⁾. It has also been found that an increase in the level of insaturación of FA C-18, occurs a minor proportion of acetate and higher of propionate, declining populations of methanogenics and protozoa with linoleic and linolenic acids, being this last one more efficient⁽⁸⁰⁾.

Other authors mention that unsaturated long chains FA are those who have a high potential to suppress

alimentados con forraje fresco de *Lolium perenne* o de *Chicorium intybus*, y adicionados con 3 % de aceite de coco no se encontró una disminución importante en la producción de CH₄: 25.1 y 24.5 g animal⁻¹ día⁻¹, para el control y el aceite de coco, respectivamente⁽⁵⁶⁾. La suplementación con aceite de coco, a dietas basadas en ensilaje de maíz, heno de pasto y concentrado, redujo en 26 % la producción de CH₄ kg de peso vivo⁻¹ en ovinos, respecto a la dieta testigo, en tanto que con semilla de nabo, de girasol y de linaza, la reducción fue de 19, 27 y 10 %, respectivamente⁽⁷⁶⁾. La adición de 5 % de aceite de girasol a una dieta alta en forraje, disminuyó en 22 % la producción de CH₄ respecto al testigo, sin embargo, la digestibilidad de la FDN en el tracto total disminuyó 20 %⁽⁶⁶⁾. El uso de semilla de algodón o canola como fuente de grasa a dietas para vacas en lactación, no afectó la emisión de CH₄, aunque existió tendencia a incrementar la eficiencia de producción de leche por unidad de CH₄ emitido, por lo que el uso de grasas insaturadas provenientes de semillas de oleaginosas no fue efectivo para reducir la emisión de CH₄⁽⁷⁷⁾.

Ácidos grasos: Acido cáprico (C_{10:0}). La adición de 10, 20 ó 30 mg a 0.5 g de un concentrado estándar para ganado lechero y su incubación *in vitro*, provocó inhibición en la metanogénesis, y a mayor dosis de ácido cáprico, mayor inhibición (-85 y -34 % con las dosis de 30 y 20 mg, respectivamente), sin que se observara efecto con la dosis de 10 mg, pero se requiere de la evaluación *in vivo* para puntualizar su efecto antimetanogénico⁽⁷⁸⁾.

Acido láurico (C₁₂). Se ha demostrado *in vivo* que el ácido láurico es más potente para suprimir la producción de CH₄ en el tracto total (- 68 %), que el ácido mirístico (-49 %)⁽⁷⁹⁾. Estos mismos autores encontraron una disminución curvilínea al incrementar la proporción de C₁₂ en una mezcla de C₁₂/C₁₄, agregada a líquido ruminal *in vitro*. La reducción en la producción de CH₄ en 24 h fue de 50 % al adicionar 10 mg de C₁₂ y 20 mg de C₁₄, de 87 % cuando se agregaron 15 mg de cada uno y de 96 % cuando la proporción fue de 20 mg de C₁₂ y 10 mg de C₁₄. La población de *Archaea* disminuyó en una forma casi lineal al incrementar la proporción de C₁₂.

ruminal methanogenesis⁽⁸¹⁾. It has been determined that linolenic acid had the highest suppressor effect; to assess the emission of CH₄ by sheep in finalization, using different proportions forage:concentrated diets: (70:30 to 30:70) and added with 5 % of the DM of ethyl-linolenate, reduced methanogenesis in 17.3 and 33.8 % in forage and concentrate base diets, respectively. The effects of the ethyl-linolenate consisted of pH increase, decrease in the molar proportion of acetate and butyrate, and increase in the propionate in the concentrated based diet, while in the forage based diet the effect was small. N-ammonia and microbial protein mass decreased ($P < 0.05$) by the addition of ethyl-linolenate, and concluded that the addition of this compound may inhibit CH₄ emission in both types of diets⁽⁵²⁾.

Organic acids (dicarboxylic acids). Malic acid (MA). While the addition of MA to the diet of ruminants has resulted in inconsistent responses, in apparent digestibility and rumen fermentation, such inconsistencies can be attributed to the different conditions, such as variation in the forage:concentrated proportion, different MA doses, and different methods of evaluation (*in vitro* and *in vivo*). It has pointed out that the optimal MA dose is 15.6 g kg DM⁻¹, having increased the ruminal concentration of VFAs and altered the pattern of fermentation into the production of greater amount of propionic acid⁽⁸²⁾.

Fumaric acid (FA). As an additive, the FA has the potential to decrease CH₄ as well as increase the glycogenesis and milk yield also, but the amount should be restricted because the risk of acidosis and the consequent decrease in feed intake and fiber digestibility. The FA is reduced to succinate by H₂ or 2H, which in turn become a propionate. One mole FA can therefore deviate a maximum of one H₂ mole of the formation of CH₄. Providing FA encapsulated in a deck of partially hydrogenated oil cover, produced a FA slow-release, so it was possible to reduce 76 % CH₄ production: 24.6 vs 5.8 L day⁻¹ for control diet and FA, respectively⁽⁸³⁾. Different doses of fumarate on *in vitro* culture, on the fermentation of five concentrates have been evaluated: corn, barley, wheat, sorghum and cassava flour, decreasing ($P < 0.05$) linearly the concentration

Ácido mirístico (C_{14:0}). De entre los AG saturados, los de cadena media (C₈-C₁₆) son los que tienen mayor potencial para suprimir la metanogénesis ruminal. La adición de 5 % de ácido mirístico a la RTM de vacas en producción, redujo ($P < 0.05$) en 36 % la producción de CH₄: 608 vs 391 L animal⁻¹ día⁻¹, para la dieta testigo y la que contenía ácido mirístico, respectivamente. La cantidad de CH₄ producida en cada uno de los tratamientos fue equivalente a 23.0 y 14.8 MJ, respectivamente. Concomitantemente hubo una tendencia a la reducción en el consumo de MS, en la producción de leche y disminución ($P < 0.05$) de grasa en la leche⁽⁷²⁾.

Ácidos oleico (C_{18:1}), linoleico (C_{18:2n-6}), linolénico (C_{18:3n-3}), palmítico (C₁₆) y etil-linolenato. Se ha propuesto que la adición al rumen de aceptores de hidrógeno distintos al CO₂ podrían reducir la producción de CH₄, para lo cual se realizó una serie de experimentos, en los que la infusión de ácido oleico, linoleico y linolénico redujeron la producción de CH₄ en 13.8, 14.2 y 16.4 Kcal en forma de CH₄ por 100 Kcal de ácido oleico, linoleico y linolénico, respectivamente⁽⁵⁰⁾. La depresión en la producción de CH₄ tendió a incrementarse a medida que aumentó la insaturación de los AG. Cuando se infundió ácido palmítico, la producción de CH₄ se redujo considerablemente, lo que confirmó que el efecto que los AG de cadena larga tienen en la producción de CH₄ es considerable pero no depende totalmente de su insaturación⁽⁵⁰⁾. También se ha encontrado que ocurre una menor proporción de acetato y mayor de propionato al incrementar el nivel de insaturación de los AG C-18, disminuyendo las poblaciones de metanogénicos y protozoarios con los ácidos linoleico y linolénico, siendo este último más eficiente⁽⁸⁰⁾.

Otros autores mencionan que los AG insaturados de cadena larga son los que tienen un alto potencial para suprimir la metanogénesis ruminal⁽⁸¹⁾. A este respecto, se ha determinado que el ácido linolénico tuvo el mayor efecto supresor; al evaluar la emisión de CH₄ por ovinos en finalización, usando dietas con diferente proporción forraje:concentrado (70:30 a 30:70) y adicionadas con 5 % de la MS de etil-

of CH₄ in all substrates, without a difference between levels of 7 and 10 mM, although the decline was modest (2.3, 3.8 and 4.8 % for doses of 4, 7, and 10 mM, respectively). The greatest response was observed in maize, so, using fumarate *in vitro* was dependent on the substrate and dose used. If the effects seen *in vitro* are confirmed *in vivo* in animals fed with concentrated diets, this compound could be an alternative to antibiotic growth promoters, although other evidence would be needed to assess adequately the influence of the fumarate in different feeding conditions⁽⁸⁴⁾. Conversely, offering 80 g day⁻¹ FA to growing calves fed high forage diets based on barley silage, found no effect for CH₄ emissions; 26 and 25 g Kg DM⁻¹ consumed for FA and control, respectively⁽⁶⁶⁾.

Secondary metabolites. These include saponins, essential oils, glycosides, tannins, lignins, alkaloids, polysaccharides, terpenoids and phenols. The specificity of the secondary metabolites of plants against microbial groups can be used for selective inhibition of some undesirable microbes in the rumen. In an evaluation of 93 extracts from 31 plants, 11 of these were effective as *in vitro* antimethanogenics, in the order of 25 to 50 % and nine in more than 50 %⁽⁶¹⁾. Another study evaluated the effect of 450 plants on CH₄ production *in vitro*, and found that 12 of them had a depressant methanogenic effect of above 20 % and in a further trial, only six showed significant effect without inhibiting the fermentation of the substrate: *Carduus pycnocephalus*, *Populus tremula*, *Quercus robur*, *Rheum nobile* and *Salix caprea*⁽⁸⁵⁾.

Tannins, saponins and other phenolic compounds. The condensed tannins (CT) of plants reduce rumen methanogenesis by the decrease of the formation of hydrogen and inhibiting the methanogenesis (Scalbert (1993) and Tavendale *et al* (2005), cited by Ramírez *et al*⁽⁸⁶⁾). These last authors found lower CH₄ production in sheep fed with forage blocks containing small pieces of *Salix* spp, that in sheep grazing *Lolium perenne* and *Trifolium repens*: 25.4 vs 31.0 g animal⁻¹ d⁻¹, respectively, after 5 wk of grazing, the reduction was attributed to the presence of CT and other phenolic compounds in the bushes of *Salix* spp. Decrease in the production of CH₄

linolenato, se redujo la metanogénesis en 17.3 y 33.8 % en las dietas basadas en forraje y en concentrado, respectivamente. Los efectos del etil-linolenato consistieron en incremento del pH, disminución de la proporción molar de acetato y butirato, e incremento en la de propionato en la dieta basada en concentrado, mientras que en la dieta basada en forraje el efecto fue pequeño. El N-amoniaco y la masa proteica microbiana disminuyeron ($P < 0.05$) por la adición de etil-linolenato, y concluyeron que la adición de este compuesto puede inhibir la emisión de CH_4 tanto en dietas basadas en forraje como en concentrado⁽⁵²⁾.

Ácidos orgánicos (ácidos dicarboxílicos). Ácido málico (AM). Si bien la adición de AM a la dieta de rumiantes ha resultado en respuestas inconsistentes, en cuanto a fermentación ruminal y digestibilidad aparente, tales inconsistencias pueden atribuirse a las distintas condiciones en que se desarrollaron las pruebas, tales como variación en la proporción forraje:concentrado, diferente dosis de AM, y distintos métodos de evaluación (*in vitro* e *in vivo*). Se ha determinado que la dosis óptima de AM es de 15.6 g kg MS^{-1} , habiendo incrementado la concentración ruminal de AGVs y alterado el patrón de fermentación hacia la producción de mayor cantidad de ácido propiónico⁽⁸²⁾.

Ácido fumárico (AF). Como aditivo, el AF tiene potencial para disminuir la producción de CH_4 así como de incrementar la glucogénesis y por tanto el rendimiento de leche, pero la cantidad debe restringirse debido al riesgo de acidosis y al consecuente decremento en la digestibilidad de la fibra y del consumo de alimento. El AF es reducido a succinato por H_2 o 2H , el cual es convertido a su vez en propionato. Un mol de AF puede por tanto desviar un máximo de un mol de H_2 de la formación de CH_4 . Se ha suministrado AF encapsulado en una cubierta de aceite parcialmente hidrogenado, mediante la cual ocurrió liberación lenta del AF, con lo que fue posible disminuir en 76 % la producción de CH_4 ; 24.6 vs 5.8 L día⁻¹ para la dieta testigo y la adicionada con AF encapsulado, respectivamente⁽⁸³⁾. Se han evaluado

(39.6 L kg⁻¹ digestible DM vs 52.1 of the control) has been found when *Terminalia chebula* was included in wheat straw diets plus concentrated in a proportion 1:1; this species seems to have the potential to be used as an additive to improve digestibility and reduce enteric CH_4 emissions in ruminants, due to high concentration of phenolic compounds⁽⁸⁷⁾. *In vitro* evaluation of tanninifer species (*Stylobium aterrimum*, *S. derringiatum*, *Leucaena leucocephala*, *Mimosa caesalpiniaefolia*), and *Cynodon* as control, containing: 20, 54, 66, 105 and 0.2 g kg⁻¹ CT of DM, respectively, resulted to the average time of maximum gas production, CH_4 was reduced ($P < 0.05$) at 17 % with the addition of legumes. When it was related to the true degradability of substrate reduction averaged 50 % with *Leucaena* and *S. aterrimum* and 25 % with *S. derringiatum* and *M. caesalpiniaefolia*. In general, the tanninifer plants were able to reduce enteric CH_4 , with different proportions in the products of fermentation, however, only *Leucaena* and *S. aterrimum* can contribute to increase animal production more efficiently⁽⁸⁸⁾. A similar study found a decline in CH_4 production including 127 g kg⁻¹ d⁻¹ *M. caesalpiniaefolia* in sheep's feed: 31 vs 20 kg⁻¹ ml of DM ingested, for control and *M. caesalpiniaefolia*, respectively⁽³²⁾. Tannins reduced rumen biohydrogenation, either in diets based on concentrated or based in forages both, in *in vitro* as *in vivo* trials. Tannins supplementation (4 % of the DM) reduced accumulation of saturated FA in blood ($P < 0.05$), compared with tannin-free diets. This implies that tannin supplementation can be a useful strategy to increase the rumenic acid and the content of polyunsaturated FA and reduce the saturated FA in the meat of ruminants. However, the correct concentration of tannins in the diet must be carefully chosen to avoid negative effects on consumption of DM and productive performance⁽⁸⁹⁾. Extracts of mango (*Mangifera indica*), garlic (*Allium sativum*) and *Foeniculum vulgare*, inhibited methanogenesis without depressing the digestibility, which is why these species may be subject of further research to determine the most appropriate dose *in vivo*⁽⁶¹⁾.

The second group in importance are the saponins, whose anti-protozoan effect is attributed to the link

distintas dosis de fumarato en cultivos *in vitro*, sobre la fermentación de cinco alimentos concentrados: maíz, cebada, trigo, sorgo y harina de yuca, disminuyendo ($P < 0.05$) linealmente la concentración de CH_4 en todos los sustratos, sin existir diferencia entre niveles de 7 y 10 mM, aunque la disminución fue modesta (2.3, 3.8 y 4.8 % para las dosis de 4, 7 y 10 mM, respectivamente). La mayor respuesta se observó en maíz, por lo que la utilización del fumarato *in vitro* fue dependiente del sustrato y de la dosis utilizada. Si los efectos observados *in vitro* son confirmados *in vivo*, en animales alimentados con dietas concentradas, este compuesto podría ser una alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento, aunque serían necesarias otras pruebas para valorar adecuadamente la influencia del fumarato en diferentes condiciones de alimentación⁽⁸⁴⁾. Contrariamente, al ofrecer 80 g día⁻¹ de AF a becerros en crecimiento alimentados con dietas altas en forraje con base en ensilado de cebada, no se encontró efecto en la emisión de CH_4 ; 26 y 25 g Kg MS⁻¹ consumida, para la dieta con AF y la dieta control, respectivamente⁽⁶⁶⁾.

Metabolitos secundarios. Estos incluyen a las saponinas, terpenoides, fenoles, glucósidos, taninos, ligninas, alcaloides, polisacáridos y aceites esenciales. La especificidad de los metabolitos secundarios de los vegetales contra grupos microbianos puede utilizarse para la inhibición selectiva de algunos microbios indeseables en el rumen. En un estudio se evaluaron 93 extractos de 31 plantas, y 11 de estos fueron efectivos como antimetanógenos *in vitro*, en el orden de 25 a 50 % y nueve en más de 50 %⁽⁶¹⁾. En otro estudio se evaluó el efecto de 450 plantas sobre la producción de CH_4 *in vitro*, y se encontró que 12 de ellas tuvieron un efecto depresor de la metanogénesis superior al 20 % y en una prueba más, se detectó que sólo seis mostraron efecto significativo sin inhibir la fermentación del sustrato, siendo éstas: *Carduus pycnocephalus*, *Populus tremula*, *Prunus avium*, *Quercus robur*, *Rheum nobile* y *Salix caprea*⁽⁸⁵⁾.

Taninos, saponinas y otros compuestos fenólicos. Los taninos condensados (TC) de las plantas reducen

of the saponins with cholesterol from the cell membrane of the protozoan, causing their lysis, and given that about 25 % of the methanogenics are in symbiosis with ciliated protozoa, inhibition of methanogenesis is mainly attributed to the adverse effect of saponins in the hydrogen-producing ciliated protozoa and cellulolytic, bacterias reducing the hydrogen supply for methanogenesis^(61,90).

Use of ropadiar (oregano extract; Ropapharm Inc. Product, Holland), and flavomycin, both at a dose of 250 mg d⁻¹, and saponins (excerpt from *Yucca schidigera*), 170 mg d⁻¹, intake and digestibility were not affected by treatments. The average CH_4 production based on digestible OM decreased compared to the control in 3.3 and 4.2 g kg⁻¹ with saponin and ropadiar, respectively. The production was positively correlated with concentrations of $\text{NH}_3\text{-N}$ ruminal and negatively with the total VFA and the proportion of propionate in the ruminal liquid⁽¹⁹⁾.

Essential oils (EO). To assess the impact of some EO in sheep Archaea ruminal populations, 0.02 g DM⁻¹ kg of cinamaldehido, garlic oil and Juniper oil, were added. Through the analysis of DNA ruminal content, using quantitative PCR, electrophoresis gels, cloning and sequencing techniques, it was found that the population of Archaea was not significantly affected by treatments. Phylogenetic analysis showed that these EO increased the diversity of Archaea methanogenic, relative to *Methanosphaera stadtmanae*, *Methanobrevibacter smithii* and some non-culture groups of sheep rumen⁽⁹¹⁾. Another study found that garlic oil (5 g cow⁻¹ d⁻¹) and Juniper oil (2 g cow⁻¹ d⁻¹) did not affect feed intake, but both promoted greater rumen digestibility of the DM and OM (+ 13 %) than the control; mainly due to the increase in the ruminal protein digestion (+ 11 %)⁽⁹²⁾.

The effect of peppermint oil (*Mentha piperita*) has also been studied *in vitro*, by adding it to the culture medium at doses of 0, 0.33, 1.0 and 2.0 $\mu\text{l ml}^{-1}$, on the production of gas and CH_4 . The substrate was wheat straw and concentrate, in proportion 1:1 using liquid rumen as a source of inoculum. CH_4 production on the control was 19.9,

la metanogénesis ruminal mediante la disminución de la formación de hidrógeno e inhibiendo a los metanogénicos, Scalbert (1993) y Tavendale *et al* (2005), citados por Ramírez *et al*(86). Estos últimos autores encontraron menor producción de CH₄ en ovinos alimentados con bloques de forraje que contenían pequeños trozos de *Salix spp*, que en ovinos en pastoreo de *Lolium perenne* y *Trifolium repens*: 25.4 vs 31.0 g animal⁻¹ d⁻¹, respectivamente, después de cinco semanas de pastoreo, atribuyendo la reducción a la presencia de TC y de otros compuestos fenólicos en los arbustos de *Salix spp*. Se ha encontrado disminución en la producción de CH₄ (39.6 L kg de MS digestible⁻¹ vs 52.1 del testigo) al incluir *Terminalia chebula* en dietas de paja de trigo más concentrado en una proporción 1:1, por lo que esta especie parece tener potencial de uso como aditivo para mejorar la digestibilidad y reducir las emisiones entéricas de CH₄ en rumiantes, debido a la presencia de alta concentración de compuestos fenólicos(87). La evaluación *in vitro* de la adición de especies taniníferas (*Stylobium aterrimum*, *S. derringiatum*, *Leucaena leucocephala*, *Mimosa caesalpiniaefolia*), y *Cynodon* como testigo, conteniendo: 20, 54, 66, 105 y 0.2 g de TC kg⁻¹ de MS, respectivamente, dio como resultado que al tiempo medio de la máxima producción de gas, el CH₄ se redujo ($P < 0.05$) en 17 % con la adición de leguminosas. Cuando se relacionó con la degradabilidad verdadera del sustrato la reducción promedió 50 % con *Leucaena* y *S. aterrimum* y en 25 % con *S. derringiatum* y *M. caesalpiniaefolia*. En general, las plantas taniníferas fueron capaces de reducir el CH₄ entérico, con diferentes proporciones en los productos de la fermentación, sin embargo, sólo *Leucaena* y *S. aterrimum* pueden contribuir a incrementar la producción animal con mayor eficiencia(88). Un estudio similar encontró disminución en la producción de CH₄ al incluir 127 g kg⁻¹ d⁻¹ de *M. caesalpiniaefolia* en el alimento para ovinos: 31 vs 20 ml kg⁻¹ de MS ingerida, para la dieta testigo y la que contenía *M. caesalpiniaefolia*, respectivamente(32). Se ha encontrado en ensayos tanto *in vitro* como *in vivo* que los taninos reducen la biohidrogenación ruminal, ya sea en dietas basadas en concentrado como en forrajes. La suplementación con taninos (4 % de la

46.0 and 75.6 % lower with each dose employed, respectively, being the higher value similar to the one reported by Wood *et al*(83), when using encapsulated fumaric acid. However, high doses of peppermint oil were toxic to the ruminal microbiota, so only the level of 0.33 ml⁻¹ µl could be assessed more in detail in *in vivo* studies(93).

Other compounds. Halogenated inhibitors. Bromochloromethane (BCM). Adding 5.5 g d⁻¹ BCM, as well as 5 % of tallow or corn oil to diets for growing calves, only the BCM showed significant antimethanogenics effects, occurring the maximum inhibition at 6 h pos food; at 15 h was only 50 % and zero to 24 h(94). In sheep, BCM doses of 0, 1.5, 3.0 and 4.5 mg kg PV⁻¹, resulted in CH₄ productions of 14.4, 1.86 and 2.21 and 2.3 L 12 h⁻¹ animal⁻¹, and reduction of 85 % (95) (one of the highest values reported in the literature to date) coupled with values of 90 % (96) and 96 % (79). In heifers, it has been referred a 30 % reduction in CH₄ emission when BCM is added, without affecting the fiber digestibility(61). The persistence of antimethanogenic activity of the BCM in the ruminal fermentation and in the structure of the microbial communities in conditions of continuous fermentation *in vitro* has been recently studied, finding 89 to 94 % reduction in the CH₄ value, as well as an inhibition of methanogenics accompanied with a decrease of 66 and 8 % of the *R. flavefaciens* and *F. succinogenes* populations respectively, and a 62 % increase in the total fungal population, without effect of the BCM in the protozoa population(97).

Bromoethanosulfonate. CH₄ production fell to levels difficult to detect in the presence of 5 mmol L⁻¹ of bromoethanosulfonic acid in two different substrates (alfalfa and corn); the number of methanogenics estimated by PCR in real time was significantly reduced but not totally eliminated(61).

Nitrates. A recent compilation on the subject, mentions that the nitrates can be used as a source of fermentable N in the rumen, providing that the animal has been previously adapted, without signs of disease, and the possible increase in the efficiency of microbial growth. It has been hypothesized that

MS) redujo la acumulación de AG saturados en sangre ($P < 0.05$), comparada con las dietas libres de taninos; lo que implica que la suplementación con taninos puede ser un estrategia útil para incrementar el ácido ruménico y el contenido de AG poliinsaturados y reducir los AG saturados en la carne de rumiantes. Sin embargo, la concentración correcta de taninos en la dieta debe ser elegida cuidadosamente para evitar efectos negativos en el consumo de MS y en el comportamiento productivo⁽⁸⁹⁾. Los extractos de mango (*Mangifera indica*), ajo (*Allium sativum*) y *Foeniculum vulgare*, inhibieron la metanogénesis sin deprimir la digestibilidad, por lo cual estas especies pueden ser objeto de otras investigaciones para determinar la dosis más apropiada *in vivo*⁽⁶¹⁾.

El segundo grupo en importancia son las saponinas, cuyo efecto anti protozario se atribuye al enlace de las saponinas con el colesterol de la membrana celular del protozario, causando su lisis, y dado que aproximadamente el 25 % de los metanogénicos están en simbiosis con protozoarios ciliados, la inhibición de la metanogénesis se atribuye principalmente al efecto adverso de las saponinas en los protozoarios ciliados productores de hidrógeno y en las bacterias celulolíticas, reduciendo la disponibilidad de hidrógeno para la metanogénesis^(61,90).

Al utilizar ropadiar (extracto de orégano; Ropapharm Inc. Product, Holland), y flavomicina, ambos en dosis de 250 mg día⁻¹ y saponinas (extracto de *Yuca schidigera*) en dosis de 170 mg día⁻¹, el consumo y la digestibilidad no se afectaron por los tratamientos. La producción media de CH₄ expresada en base a MO digestible disminuyó en comparación al testigo en 3.3 y en 4.2 g kg⁻¹ con saponina y ropadiar, respectivamente. La producción se correlacionó positivamente con las concentraciones ruminales de NH₃-N y negativamente con las de AGV totales y con la proporción de propionato en el líquido ruminal⁽¹⁹⁾.

Aceites esenciales (AE). A fin de evaluar el impacto de algunos AE en las poblaciones ruminales de *Archaea*, se evaluaron el cinamaldehído, el aceite de ajo y el aceite de junípero, adicionados en dosis de 0.02 g kg MS⁻¹ a dietas para ovejas. Mediante

the use of nitrates increases sulphur requirements, to keep the conversion to ammonium without producing nitrites in excess. This was based on a study in which joint adding nitrates and sulfates to the sheep diet, led to a greater reduction in the production of methane, without any sign of methemoglobinemia; however, further research on the subject is needed⁽⁹⁸⁾.

Commercial products. Rumalato and Rumalac. These products are marketed in Spain, although they are also available at Mexico; elaborated with malic acid in the form of sodium malate.

BLCS (livestock Bio clean system; Japan Jinando Enterprises Inc.). It is a commercial supplement that contains *Lactobacillus*, *Bacillus nato* and yeasts, which includes the modification of the rumen activity and CH₄ emission reduction *in vitro* and the increase in milk yield *in vivo*. Ten (10) g of this supplement was offer to a grazing dairy cows, resulting in a reduction ($P < 0.05$) of 10 % in the CH₄ emission expressed relative to the use of DM: 19 vs 17.1 g kg consumed⁻¹ DM, which the authors considered an antimethanogenic effect relatively low, although there is still in research the most appropriate dose of this product for animals fed based on grazing⁽²³⁾.

Ruminal microflora alteration. Defaunation (of protozoa). Besides the direct inhibition of the methanogenics by food additives, the protozoa are frequent targets for inhibition, due to its close physical association with endo and ecto-symbionts that stimulate methanogenesis in the rumen⁽⁹⁹⁾.

Addition of acetogenic bacteria. *In vitro* evaluation of six acetogenic bacteria resulted in the CH₄ decrease production by 5 % with two of them (*Eubacterium limosum* and bacteria identified as Ser 5)⁽¹⁰⁰⁾, while another study reported a 66 % reduction in the CH₄ production when adding to *in vitro* incubations of an acetogenic bacterium, believing that it has a high ability to compete with the methanogenic CO₂ and H⁺, so they have the potential as ruminal inoculums to decrease the CH₄ production, although further studies for identification are required⁽⁶⁴⁾.

el análisis del ADN del contenido ruminal utilizando técnicas cuantitativas de PCR, electroforesis en gel, clonación y secuenciación, se encontró que la población de *Archaea* no se afectó significativamente por los tratamientos. El análisis filogenético indicó que estos AE incrementaron la diversidad de *Archaea* metanogénicas, con relación a *Methanosphaera stadtmanae*, *Methanobrevibacter smithii* y algunos grupos no cultivables del rumen ovino⁽⁹¹⁾. En otro estudio se encontró que el aceite de ajo (5 g vaca⁻¹ día⁻¹) y el aceite de junípero (2 g vaca⁻¹ día⁻¹) no afectaron el consumo de alimento, pero ambos promovieron mayor digestibilidad ruminal de la MS y MO (+13 %) que el testigo; debido fundamentalmente al incremento en la digestión ruminal de la proteína (+ 11 %)⁽⁹²⁾.

También se ha estudiado el efecto del aceite de menta (*Mentha piperita*) *in vitro*, adicionándolo al medio en dosis de 0, 0.33, 1.0 y 2.0 µl ml⁻¹, sobre la producción de gas y de CH₄. El sustrato fue paja de trigo y concentrado en proporción 1:1 usando líquido ruminal como fuente de inóculo. La producción de CH₄ respecto al testigo fue 19.9, 46.0 y 75.6 % menor con cada una de las dosis empleadas, respectivamente, siendo similar el valor mayor al reportado por Wood *et al*⁽⁸³⁾, al usar ácido fumárico encapsulado. Sin embargo, las dosis altas de aceite de menta fueron tóxicas para la microbiota ruminal, por lo que sólo el nivel de 0.33 µl ml⁻¹ pudiese ser evaluado más a detalle en estudios *in vivo*⁽⁹³⁾.

Otros compuestos: Inhibidores halogenados. Bromoclorometano (BCM). Al adicionar 5.5 g día⁻¹ de BCM, así como 5 % de sebo o aceite de maíz a dietas de becerros en crecimiento, únicamente el BCM mostró efectos antimetanógenos significativos, ocurriendo la máxima inhibición a las 6 h pos alimentación; a las 15 era solamente del 50 % y nula a las 24 h⁽⁹⁴⁾. En ovinos, la administración de BCM en dosis de 0, 1.5, 3.0 y 4.5 mg kg PV⁻¹, resultó en producciones de CH₄ de 14.4, 2.3, 2.21 y 1.86 L 12 h⁻¹ animal⁻¹, y una reducción del 85 %⁽⁹⁵⁾ (uno de los mayores valores reportados en la literatura hasta la fecha), aunados a valores de 90 %⁽⁹⁶⁾ y 96 %⁽⁷⁹⁾. En vaquillas se refiere una reducción de 30 % en la emisión de

Vaccines. The feasibility of a vaccine made with five methanogenic sheep strains was assessed through its application in 32 sheep at 0, 28 and 103 d, without finding any difference in CH₄ levels or the number of methanogenics between the vaccinated group and the control; However, the results suggested that a highly specific vaccine for certain strains of methanogenics can be developed⁽¹⁰¹⁾.

CONCLUSIONS

There is a lot of factors that affect the methane production in ruminants, so that mitigation strategies should be comprehensive and carefully designed at every level of planning.

The decrease in methane production reported in the literature is very variable (up to 90 %), which may be due to the difference in terms of food, strategies for mitigation, methodology used for the sampling and analytical techniques; however, this wide-scale suggests a great potential to reduce enteric methane emissions.

There is no (easy to implement and standardize in any laboratory) simple methodologies to carry out studies on the production of methane *in vitro* or *in vivo*.

The effect of the ionophores, particularly sodium monensin, is inconsistent and the yeast is invaluable, but requires further investigation of appropriate strains.

Vegetable fats appear to have the biggest impact on reducing of methanogenesis, although this effect is associated with reduced digestibility, particularly the fibrous fraction.

In general, the tanniniferous plants were able to reduce enteric CH₄, with different proportions in the products of fermentation; however, only *Leucaena* and *Stylobium aeternum* can contribute to increase animal production more efficiently.

In Mexico, information on production of methane by ruminants is scarce, as well as the investigation into the matter.

CH₄ a cuya dieta se le adicionó BCM, sin afectar la digestibilidad de la fibra⁽⁶¹⁾. Recientemente se ha estudiado la persistencia de la actividad antimetanogénica del BCM en la fermentación ruminal y en la estructura de las comunidades microbianas en condiciones de fermentación continua *in vitro*, encontrando reducción de 89 a 94 % en los valores de CH₄, así como una inhibición completa de los metanogénicos acompañada por una disminución de 66 y de 8 % en la población de *R. flavefaciens* y de *F. succinogenes*, respectivamente, y de un incremento de 62 % en la población total de hongos, no habiendo efecto del BCM en la población de protozoarios⁽⁹⁷⁾.

Bromoetanosulfonato. La producción de CH₄ se redujo hasta niveles difíciles de detectar en la presencia de 5 mmol L⁻¹ de ácido bromoetanosulfónico en dos sustratos distintos (alfalfa y maíz); el número de metanogénicos estimados por PCR en tiempo real disminuyó significativamente pero no se eliminaron por completo⁽⁶¹⁾.

Nitratos. En una reciente compilación sobre el tema, se menciona que los nitratos pueden usarse como fuente de N fermentable en el rumen, siempre y cuando el animal haya sido previamente adaptado, sin que se observen signos de enfermedad y con el posible incremento en la eficiencia de crecimiento microbiano. Se ha hipotetizado que la utilización de nitratos incrementa los requerimientos de azufre a fin de mantener la conversión a amonio sin producir nitritos en exceso. Esto se fundamentó en un estudio en el que la adición conjunta de nitratos y sulfatos a la dieta de ovinos produjo la mayor reducción en la producción de metano, sin ningún signo de metahemoglobinemia, sin embargo, es necesaria más investigación al respecto⁽⁹⁸⁾.

Productos comerciales. Rumalato y Rumalac. Estos productos se comercializan en España, aunque también están disponibles en México; elaborados con base en ácido málico en forma de malato sódico.

BLCS (Bio Livestock Clean System™; Japan Jinando Enterprises Inc). Es un suplemento comercial que contiene *Lactobacillus*, *Bacillus natto* y levaduras, cuya aplicación incluye la modificación de la

As part of actions to mitigate emissions of methane from agriculture, and specifically of livestock, the search for alternatives to reduce the production of methane by ruminants, should be a concomitant activity to all research, and technological application in animal nutrition, which can contribute to reducing GHG emissions. The application of available livestock technologies should be pressing action, in order to maximize the efficiency of the primary production process. The actions of mitigating emissions of methane by ruminants are only a part of the wide range of actions to begin immediately to mitigate and slow down the effect of global warming and global climate change.

ACKNOWLEDGMENTS

Partial funding for the completion of this review is appreciated through the Mexican Fomix-Nayarit 2008 project number CO1/93389: Strengthening of the doctorate in biological, agricultural, livestock and fisheries sciences.

End of english version

actividad ruminal y la reducción de la emisión de CH₄ *in vitro* y el aumento de la producción de leche *in vivo*. Se ofrecieron 10 g de este suplemento a vacas lecheras en pastoreo y resultando en una reducción ($P < 0.05$) de 10 % en la emisión de CH₄ expresado con relación al consumo de MS: 19 vs 17.1 g kg MS consumida⁻¹, lo cual los autores consideran un efecto antimetanogénico relativamente bajo, aunque falta por investigar la dosis más adecuada de este producto para animales alimentados con base en pastoreo⁽²³⁾.

Alteración de la microflora ruminal. Defaunación (de protozoarios). Además de la inhibición directa de los metanogénicos por aditivos al alimento, los protozoarios son un blanco frecuente para la inhibición debido a su estrecha asociación física con endo y ecto-simbiotes que estimulan la metanogénesis en el rumen⁽⁹⁹⁾.

Adición de bacterias acetogénicas. La evaluación de seis bacterias acetogénicas *in vitro* resultó en la disminución de la producción de CH₄ en 5 % con dos de ellas (*Eubacterium limosum* y una bacteria identificada como Ser 5)⁽¹⁰⁰⁾, mientras que otro estudio reportó una reducción de 66 % en la producción de CH₄ al adicionar a incubaciones *in vitro* una bacteria acetogénica, estimándose que ésta tiene una alta capacidad para competir con las metanogénicas por el CO₂ y el H⁺, por lo que tiene potencial como inóculo ruminal para disminuir la producción de CH₄, aunque se requiere de mayores estudios para su identificación⁽⁶⁴⁾.

Vacunas. Se evaluó la viabilidad de una vacuna elaborada con cinco cepas metanogénicas de ovinos por medio de su aplicación en 32 ovinos a los 0, 28 y 103 días, sin encontrar diferencia en los niveles de CH₄ producido ni en el número de metanogénicos entre el grupo vacunado y el testigo; sin embargo, los resultados sugirieron que se puede elaborar una vacuna altamente específica para ciertas cepas de metanogénicos⁽¹⁰¹⁾.

CONCLUSIONES

Existe una gran cantidad de factores que afectan la producción de metano en los rumiantes, por lo que las estrategias para su mitigación deben ser integrales y cuidadosamente diseñadas a cualquier nivel de planeación.

La disminución en la producción de metano reportada en la literatura es en extremo variable (hasta de 90 puntos porcentuales), lo que puede deberse al diferencial de condiciones de alimentación, de estrategias para su mitigación, de la metodología empleada para el muestreo y de las técnicas analíticas; sin embargo, esta amplia escala sugiere un gran potencial para reducir la emisión de metano entérico.

No existen metodologías sencillas (fáciles de implementar y estandarizar en cualquier laboratorio) para efectuar estudios sobre la producción de metano *in vitro* o *in vivo*.

El efecto de los ionóforos, particularmente monensina sódica, es inconsistente y el de las levaduras es inapreciable, aunque se requiere de mayor investigación de cepas apropiadas.

Las grasas vegetales parecen tener el mayor efecto en la reducción de la metanogénesis, aunque este efecto va asociado a disminución en la digestibilidad, particularmente de la fracción fibrosa.

En general, las plantas taniníferas fueron capaces de reducir el CH₄ entérico, con diferentes proporciones en los productos de la fermentación, sin embargo, solo *Leucaena* y *Stylobium aterrimum* pueden contribuir a incrementar la producción animal con mayor eficiencia.

En México, la información sobre producción de metano por los rumiantes es escasa, así como la investigación al respecto.

Como parte de las acciones para mitigar las emisiones de metano de la agricultura, y específicamente de la ganadería, la búsqueda de alternativas para reducir la producción de metano por los rumiantes, debería ser una actividad concomitante a toda investigación y aplicación tecnológica en el área de la nutrición animal, lo cual puede contribuir a reducir las emisiones de GEI. La aplicación de tecnologías pecuarias disponibles debería ser una acción inaplazable, a fin de maximizar la eficiencia del proceso de producción primaria. Las acciones de mitigación de las emisiones de metano por los rumiantes sólo son una parte de la amplia gama de acciones a realizar de manera inmediata para atenuar y frenar el efecto del calentamiento y el cambio climático global.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el financiamiento parcial para la realización de esta revisión por medio del proyecto CO1/93389 Fomix Nayarit 2008. Fortalecimiento del doctorado en Ciencias Biológico Agropecuarias y Pesqueras.

LITERATURA CITADA

1. Johnson KA, Johnson DE. Methane emissions from cattle. *J Anim Sci* 1995;(73):2483-2492.
2. Van Amstel A. Integrated assessment of climate change with reduction of methane emissions. *Environ Sci* 2005 2(2-3):315-326.
3. Karnati SKR, Sylvester JT, Ribeiro CVDM, Gilligan LE, Firkins JL. Investigating unsaturated fat, monensin, or bromoethanesulfonate in continuous cultures retaining ruminal protozoa. I. Fermentation, biohydrogenation, and microbial protein synthesis. *J Dairy Sci* 2009;(92):3849-3860.
4. Protocolo de Kyoto de la Convención Marco de Las Naciones Unidas sobre el cambio climático. Naciones Unidas. 1998.
5. NCAE. National Council for Agricultural Education. Global climate change and environmental stewardship by ruminant livestock producers. Student reference. Agricultural Education and University of Missouri. 1998.
6. Primavesi O, Shiraishi FRT, Dos Santos PM, Aparecida de LM, Teresinha BT y Franklin BP. Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras. *Pesquisa Agropecu Bras* 2004;39(3):277-283.
7. Carmona CJ, Bolívar MD, Giraldo AL. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Rev Col Cienc Pecu* 2005;18:1(49-63).
8. Boadi D, Benchaar C, Chiquette J and Massé D. Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: Update review. *Can J Anim Sci* 2004;84(3):1918-1825.
9. Sharma RK. Nutritional strategies for reducing methane production by ruminants. *Indian J Res* 2005;4(1).
10. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Revised 1996 IPCC guidelines for greenhouse gas inventories. Reference manual. Vol.3. [en línea] <http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/gl/invs6c.html>, Consultado 21 mayo 2010.
11. Dong H, Mangino J, McAllister TA, Hatfield JL, Johnson DE, Lassey KR, Aparecida de Lima M, Romanovskaya A. Directrices del IPCC de 2006 para los inventarios nacionales de gases de efecto invernadero. Volumen 4: Agricultura, silvicultura y otros usos de la tierra, Capítulo 10: Emisiones resultantes de la gestión del ganado y del estiércol. 2006.
12. González-Avalos E, Ruíz-Suárez LG. Methane conversion factors from cattle manure in México. *Atmósfera* 2007;20(1):83-92.
13. Gay C, Martínez J. Mitigation of emissions of greenhouse gases in Mexico. *Interciencia* 1995;20(6):336-342.
14. INE. Instituto Nacional de Ecología. Segunda comunicación nacional de México sobre cambio climático. Resumen ejecutivo. *Gaceta Ecol* 2001;60:37-49.
15. INE-SEMARNAT. Instituto Nacional de Ecología-Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. México tercera comunicación nacional ante la convención marco de las Naciones Unidas sobre el cambio climático. Primera ed. 2006.
16. Hernández TT, Ordóñez DJAB. Inventario de emisiones de gases de efecto invernadero para México. 3^{era} Reunión Nacional de Innovación Agrícola y Forestal Yucatán 2008:234.
17. INE-SEMARNAT. Instituto nacional de ecología-Secretaría del medio ambiente y recursos naturales. México cuarta comunicación nacional ante la convención marco de las Naciones Unidas sobre el cambio climático. Primera ed. 2009.
18. Smith MTS. Greenhouse gases and agriculture in Cambodia – initial perspective. GGAAC. New Zeland. 2007:lxxxi-lxxxii.
19. Wang CJ, Wang SP, Zhou H. Influences of flavomycin, ropadiar, and saponin on nutrient digestibility, rumen fermentation, and methane emission from sheep. *Anim Fed Sci Technol* 2009;148:157-166.
20. Takahashi J. Emission of GHG from livestock production in Japan. Greenhouse gases and animal agriculture: An update. Proc Inter Conf Greenhouse Gases Anim Agric. Zurich, Switzerland. 2006.
21. Takenaka A, Mistumori M, Pinares-Patiño CS, Ronimus R, Joblin KN. Methane and hydrogen concentrations in the breath of sheep. GGAAC. New Zeland. 2007:lxxxvi-lxxxvii.
22. Swainson NM, Hoskin SO, Clark H, Pinares-Patiño CS, Brookes IM. Comparative methane production and yields from adult cattle, red deer and sheep. GGAAC. New Zeland. 2007:lxxx-lxxx.
23. Knight TW, Molano G, Death AF, Clark H, ad Cavanagh A. Effects of BLCS supplements on methane emissions from lactating dairy cows. GGAAC. New Zeland. 2007:lviii-lix.
24. Brock DT, Smith WD, Madigan TM. Biology of microorganisms. 4th ed. Englewood Cliffs, NJ, USA: Prentice-Hall Inc; 1984.
25. Mah RA. Methanogenesis and methanogenic partnerships. *Phil Trans R Soc Lond* 1982; B 297:599-616.
26. Jarrell KF, Bayley DP, Correia JD, Thomas NA. Recent excitement about Archaea. *Bioscience* 1999;49(7):530-541.
27. Klass DL. Methane from anaerobic fermentation. *Science* 1984;223(4640):1021-1028.
28. Kajikawa H, Valdes C, Hillman K, Wallace RJ, Newbold CJ. Methane oxidation and its coupled electron-sink reactions in ruminal fluid. *Lett Appl Microbiol* 2003;(36):354-357.
29. Blaxter KL, Clapperton JL. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *Br J Nutr* 1965;19:511-522.
30. McLean JA. On the calculation of heat production from open circuit calorimetric measurements. *Br J Nutr* 1972;27:597-600.
31. Kelly JM, Kerrigan B, Milligan LP, McBride WM. Development of a mobile, open-circuit indirect calorimetry system. *Can J Anim Sci* 1994;74:65-71.
32. Abdalla AL, Bueno ICS, Peçanha MRSR, Longo C, Godoy PB, Sallam SMA, Castilho LA, et al. *In vivo* methane determination in a small chamber system. Proc Greenhouse Gases Anim Agric Conf (GGAAC). New Zeland. 2007:xviii-xvii.
33. Pinares-Patiño CS, Clark H, Waghorn G, Hunt C, Martin R, Lovejoy P, West J. Ruminant methane – Extension of the animal calorimetry facility at Agresearch grasslands. Agresearch Limited. 2008.
34. Grainger C, Clarke T, McGinn SM, Auldish MJ, Beauchemin KA, Hannah GC, Waghorn GC et al. Methane emissions from dairy cows measured using the sulfur hexafluoride (SF₆) tracer and chamber techniques. *J Dairy Sci* 2007;90:2755-2766.
35. Johnson KA, Huyler M, Westberg H, Brian L, Zimmerman P. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a SF₆ tracer technique. *Environ Sci Technol* 1994;28:359-362.
36. Pinares-Patiño CS, Koolaard J, Clark H, Rochette Y, Jouany J-P, Martin C. Effect of SF₆ tracer permeation rate upon the calculated ruminal methane production rates using rumen head space gas composition. GGAAC. New Zeland. 2007:lxviii-lxix.

37. Ulyatt MJ, Baker SK, McCrabb GJ, Lassey KR. Accuracy of SF₆ tracer technology and alternatives for field measurements. *Aust J Agric Res* 1999 50:1329-1334.
38. Pinares-Patiño CS, Holmes CW, Lassey KR and Ulyatt MJ. Measurement of methane emission from sheep by the sulphur hexafluoride tracer technique and by the calorimetric chamber: failure and success. *Animal* 2008;2(1):141-148.
39. Tonini M, Griffith D, Bryant G, Phillips F, Eckard R, Grainger C, McGinn S. An open air tracer method for measuring CH₄ emissions from cattle. *GGAAC. New Zeland. 2007:lxviii*.
40. Berra G, Valtorta SE, Finster L, Mangano E, Barrera F, Fraigi L. A simple technique for measuring enteric methane emissions in cows. *GGAAC. New Zeland. 2007:xxvii-xxviii*.
41. Bratzler JW, Forbes EB. The estimation of methane production by cattle. *J Nutr* 1940;(19):611.
42. Wolin MJ. A theoretical rumen fermentation balance. *J Dairy Sci* 1960;(43):1452-1459.
43. Moe PW, Tyrrel HF. Methane production of dairy cows. *J Dairy Sci* 1979;62:1583-1586.
44. Wilkerson VA, Casper DP, Mertens DR. The prediction of methane production of Holstein cows by several equations. *J Dairy Sci* 1995;78:2402-2414.
45. Ellis JL, Kebreab E, Odongo NE, McBride BW, Okine EK, France J. Prediction of methane production from dairy and beef cattle. *J Dairy Sci* 2007;90:3456-3467.
46. Blümmel M, Givens DI, Moss AR. Comparison of methane produced by straw fed sheep in open-circuit respiration with methane predicted by fermentation characteristics measured by an in vitro gas procedure. *Anim Feed Sci Technol* 2005;(123-124):379.
47. Jentsch W, Schweigel M, Weissbach F, Scholze H, Pitroff W, Derno M. Methane production in cattle calculated by the nutrient composition of the diet. *Arch Anim Nutr* 2007;61(1):10-19.
48. Lovett DK, Stack LJ, Lovell S, Callan J, Flynn B, Hawkings M, O'mara FP. Manipulating enteric methane emissions and animal performance of late-lactation dairy cows through concentrate supplementation at pasture. *J Dairy Sci* 2005;88:2836-2842.
49. Clark H, Brookes I, Walcroft A. 2003. *Enteric methane emissions from New Zealand ruminants 1990-2001 calculated using an IPCC Tier 2 approach*. Report prepared for the Ministry of Agriculture and Forestry (March 2003).
50. Czerkawsky JW, Blaxter KL, Wainman FW. The metabolism of oleic, linoleic and linolenic acids by sheep with reference of their effect on methane production. *Br J Nutr* 1966;20:349-362.
51. Kinsman R, Sauer FD, Jackson HA, Wolynetz MS. Methane and carbon dioxide emissions from dairy cows in full lactation monitored over a six month period. *J Dairy Sci* 1995;78:2760-2766.
52. Zhang CM, Yuan ZP, Yi XW, Li WT, Guo YQ, YM Wu YM, Wang JK, Liu JX, Zhu WY. Effect of forage/concentrate ratio and ethyl linolenate level on methane emission and fermentation parameters of Huzhou sheep. *GGAAC. New Zeland. 2007:xcviii-xcix*.
53. Mohini M, Singh GP. Methane production on maize fodder based rations in buffalo calves. *Indian J Anim Nutrition* 2001;18(3):204-209. <http://www.natcomindia.org/datasources1a.htm>. Consultado 4 julio 2009.
54. Swainson NM, Hoskin SO, Clark H, Pinares-Patiño CS, López-Villalobos N. Effect of age, on methane emissions of red deer stags from weaning until one year of age grazing perennial ryegrass-based pasture. *GGAAC. New Zeland. 2007:lxvii*.
55. Boadi DA, Wittenberg KM. Methane production from dairy cattle and beef heifers feed forages differing in nutrient density using the sulphur hexafluoride (SF₆) technique. *Can J Anim Sci* 2002;82:201-206.
56. Swainson NM, Hoskin SO, Clark H, Brookes IM. The effect of coconut oil and monensin on methane emissions from sheep fed either fresh perennial ryegrass pasture or chicori, *GGAAC. New Zeland. 2007:lxviii-lxxviii*.
57. Moysés do Nascimento CF, Assumpção de Abreu Demarchi JJ, Berndt A, Mazza RPH. methane emissions by nellore beef cattle consuming brachiaria brizantha with different stages of maturation. *GGAAC. New Zeland. 2007:lxiv-lxv*.
58. Hart KJ, Martin PG, Foley PA, Kenny DA, Boland TM. Effect of sward dry matter digestibility on methane production, ruminal fermentation and microbial populations of zero-grazed beef cattle. *J Anim Sci* 2009;87:3342-3350.
59. Moss AR, Givens DI, Garnsworthy PC. The effect of alkali treatment of cereal straws on digestibility and methane production in sheep. *Anim Feed Sci Technol* 1994;(49):245-259.
60. Knight TW, Molano G, Nichols W, Clark H. Effect of feeding Caucasian clover, ryegrass and combinations of ryegrass and clovers on the methane emissions of wether lambs. *GGAAC. New Zeland. 2007:lvi-lvii*.
61. Kamra DN, Patra AK, Chatterjee PN, Ravindra Kumar, Neeta Agarwal, Chaudhary LC. Effect of plant extracts on methanogenesis and microbial profile of the rumen of buffalo: a brief review. *Aust J Exp Agric* 2008;(48):175-178.
62. Galindo J, González N, Delgado D, Sosa A, Marrero Y, González R, Aldana AI, Moreira O. Efecto modulador de *Leucaena leucocephala* sobre la microbiota ruminal. *Zoot Trop* 2008;26(3):249-252.
63. Kurihara M, Magner T, Hunter RA, McCrabb GJ. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. *Br J Nutr* 1999(81):227-234.
64. Rodríguez CJA. Aislamiento y caracterización *in vitro* de una bacteria acetogénica ruminal [tesis maestría]. Montecillo, Texcoco, Estado de México: Colegio de Posgraduados; 2009.
65. Jouany JP, Morgavi DP. Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *Animal* 2007;(1-10):1443-1466.
66. McGinn SM, Beauchemin KA, Coates T, Colombatto D. Methane emissions from beef cattle: Effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. *J Anim Sci* 2004;82:3346-3356.
67. Odongo NE, Bagg R, Vessie G, Dick P, Or-Rashid MM, Hook SE, Gray JT, *et al.* Long-term effects of feeding monensin on methane production in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2007;90:1781-1788.
68. Grainger C, Auldish MJ, Clarke T, Beauchemin KA, McGinn SM, Hannah GC, Eckard J, Lowe LB. Use of monensin controlled-release capsules to reduce methane emissions and improve milk production in dairy cows offered pasture supplemented with grain. *J Dairy Sci* 2008;91:1159-1165.
69. Chaucheyras-Durand F, Walker ND, Bach A. Effects of active dry yeast on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Anim Feed Sci Technol* 2008;145:5-26.

70. Báez PJL, Cobos PMA, Ortega CME, Gonzalez MMSS, Hernández SD, Bárcena JR. Efecto de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la producción de metano y variables microbiológicas en la fermentación ruminal de alfalfa [resumen]. Reunión Nacional de Investigación Pecuaría 2009:117.
71. Aparecida PR, Franzolin R, Aparecida SE, Assumpção de Abreu DJJ, Shiraiishi FRT, Aparecida de Lima M. Efeitos de dietas contendo *Leucaena leucocephala* e *Sacharomyces cerevisiae* sobre a fermentação ruminal e a emissão de gás metano em bovinos. R Bras Zoot 2008;37(8):1509-1516.
72. Odongo NE, Or-Rashid MM, Kebreab E, France J, McBride BW. Effect of supplementing myristic acid in dairy cows rations on ruminal methanogenesis and fatty acid profile in milk. J Dairy Sci 2007;90:1851-1858.
73. Beauchemin KA, McGinn SM, Petit HV. Methane abatement strategies for cattle: Lipid supplementation of diets. Can J Anim Sci 2007;87:431-440.
74. Dohme F, Machmuller A, Wasserfallen A and Kreuzer M. Ruminal methanogenesis as influenced by individual fatty acids supplemented to complete ruminant diets. Lett Appl Microbiol 2001;32:47-51.
75. Machmüller A, Kreuzer M. Methane suppression by coconut oil and associated effects on nutrient and energy balance in sheep. Can J Anim Sci 1999;69:65-72.
76. Machmüller A, Ossowsky DA, Kreuzer M. Comparative evaluation of the effects of coconut oil, oilseeds and crystalline fat on methane release, digestion and energy balance in lambs. Anim Feed Sci Technol 2000;85(1-2):41-60.
77. Johnson KA, Kincaid RL, Westberg HH, Gaskings CT, Lamb BK, Cronrath JD. The effect of oilseeds in diets of lactating cows on milk production and methane emissions. J Dairy Sci 2002;85:1509-1515.
78. Goel G, Arvidsson K, Vlaeminck B, Bruggeman G, Deschepper K, Fievez V. Effects of capric acid on rumen methanogenesis and biohydrogenation of linoleic and α -linoleic acid. Animal 2009(3:6):810-816.
79. Soliva CR, Hindrichsen IK, Meile L, Kreuzer M, Machmuller A. Effects of mixtures of lauric and myristic acid on rumen methanogenesis in vitro. Lett Appl Microbiol 2003;37:35-39.
80. Zhang CM, Guo YQ, Yuan ZP, YM Wu, Wang JK, Liu JX, Zhu WY. Effect of octadeca carbon fatty acids on microbial fermentation, methanogenesis and microbial flora *in vitro*. Anim Feed Sci Technol 2008;146:259-269.
81. Moss AR, Jounany JP, Neewbold J. Methane production by ruminants: Its contribution to global warming. Ann Zootech 2000;49:231-253.
82. Liu Q, Wang C, Yang WZ, Dong Q, Dong KH, Huang YX *et al*. Effects of malic acid on rumen fermentation, urinary excretion of purine derivatives and feed digestibility in steers. Animal 2009;3(1):32-39.
83. Wood TA, Wallace RJ, Rowe A, Price J, Yañez-Ruiz DR, Murray P, Newbold CJ. Encapsulated fumaric acid as a feed ingredient to decrease ruminal methane emissions. Anim Feed Sci Technol 2009;152:62-71.
84. Carro MD, Ranilla MJ. Influence of different concentration of disodium fumarate on methane production and fermentation of concentrate feeds by rumen micro-organisms in vitro. British J Nutr 2003;90:617-623.
85. Bodas R, López S, Fernández M, García-González R, Rodríguez AB, Wallace RJ, González JS. In vitro screening of the potential of numerous plant species as antimethanogenic feed additives for ruminants. Anim Feed Sci Technol 2008;(145):245-258.
86. Ramírez-Restrepo CA, Barry TN, McWilliam EL, López-Villalobos N, Clark H. Methane production from sheep grazing either willow fodder blocks or dryland pasture. GGAAC. New Zealand. 2007:lxvii-lxxiv.
87. Patra AK, Kamra DN, Agarwal N. Effect of plant extracts on *in vitro* methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed rumen liquor of buffalo. Anim Feed Sci Technol 2006;128:276-291.
88. Longo AC, Hummel BJ, Kehraus BS, Liebich CJ, Burauel CP, Abdalla AAL, Südekum BKH. Effects of tanniferous plants on *in vitro* enteric methane and other rumen fermentation products. GGAAC. New Zealand:lx.
89. Vasta V, Mele M, Serra A, Scerra M, Luciano G, Lanza M *et al*. Metabolic fate of fatty acids involved in ruminal biohydrogenation in sheep fed concentrate or herbage with or without tannins. J Anim Sci 2009;(87):2674-2684.
90. Hegarty RS. Variante in protozoo populations in feedlot cattle and grazing sheep. GGAAC. New Zealand. 2007:liii-liii.
91. Ohene-Adjei S, Chaves AV, McAllister TA, Benchaar C, Teather RM, Forster RJ. Essential oils and the diversity of rumen methanogens. GGAAC. New Zealand. 2007: lxvii- lxvii.
92. Yang WZ, Benchaar C, Ametaj BN, Chaves AV, He ML, McAllister TA. Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. J Dairy Sci 2007;90:5671-5861.
93. Agarwal N, Shekhar C, Kumar R, Chaudhary LC, Kamra DN. Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on *in vitro* methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. Anim Feed Sci Technol 2009;148:321-327.
94. Johnson DE, Wood AS, Stone JB, Moran ET Jr. Effects of methane inhibition in ruminants (steers). J Dairy Sci 1971;54:792 (Abstr 6th Ann Meet).
95. Sawyer MS, Hoover WH, Sniffen CJ. Effects of a ruminal methane inhibitor on growth and energy metabolism in the ovine. J Anim Sci 1974;38:908-914.
96. Davies A, Nwaonu HN, Stanier G, Bpyle FT. Properties of a novel series of inhibitors of rumen methanogenesis; *in vitro* and *in vivo* experiments including growth trials on 2,4-bis(trichloromethyl)-benzo[1,3]dioxin-6-carboxylic acid. Br J Nutr 1982(47):565-576.
97. Goel G, Harinder P, Makkar S, Becker K. Inhibition of methanogens by bromochloromethane: effects on microbial communities and rumen fermentation using batch and continuous fermentations. Br J Nutr 2009;101:1484-1492.
98. Leng RA, Preston TR. Further considerations of the potential of nitrate as a high affinity electron acceptor to lower enteric methane production in ruminants. Livest Res Rural Develop 2010;22 [on line]. <http://www.lrrd.org/lrrd22/12/leng22221.htm> Accessed Dec 11, 2010.
99. Karnati SKR, Yu Z, Firkins JL. Investigating unsaturated fat, monensin, or bromoethanesulfonate in continuous cultures retaining ruminal protozoa. II. Interaction of treatment and presence of protozoa and prokaryotic communities. J Dairy Sci 2009;(92):3861-3873.

100. Lopez S, McIntosh FM, Wallace RJ, Newbold CJ. Effect of adding acetogenic bacteria on methane production by mixed rumen microorganisms. *Anim Feed Sci Technol* 1999;78:1-9.
101. Williams YJ, Popovsky S, Rea SM, Skillman LC, Toovey AF, Northwood KS, Wright ADG. A vaccine against rumen methanogens can alter the composition of *Archaeal* populations. *Appl Environ Microbiol* 2009;75(7):1860-1866.