

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 31/01/2018.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ENERGY PARTITION AND NITROGEN UTILIZATION BY
GROWING GOATS FED ENCAPSULATED CALCIUM
NITRATE**

Raiza Felismino Silveira

Animal Scientist

2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ENERGY PARTITION AND NITROGEN UTILIZATION BY
GROWING GOATS FED ENCAPSULATED CALCIUM
NITRATE**

Raiza Felismino Silveira

Advisor: Prof. Dr. Kleber Tomás de Resende

Co-advisor: Dra. Márcia Helena Machado da Rocha Fernandes

**Thesis submitted to the Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp
Jaboticabal, as part of the requirements for
obtaining the Master degree in Animal
Science**

2017

Silveira, Raiza Felismino
S587e Energy partition and nitrogen utilization by growing goats fed
encapsulated calcium nitrate / Raiza Felismino Silveira. --
Jaboticabal, 2017
xvii, 56 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017
Orientador: Kléber Tomás de Resende
Coorientadora: Márcia Helena Machado da Rocha Fernandes
Banca examinadora: Rafael Canonenco de Araújo, Carla Härter
Bibliografia

1. Calorimetria indireta. 2. Digestibilidade. 3. Gases de efeito
estufa. 4. Respirometria. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.084.5:636.3

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ENERGY PARTITION AND NITROGEN UTILIZATION BY GROWING GOATS FED ENCAPSULATED CALCIUM NITRATE


AUTORA: RAIZA FELISMINO SILVEIRA

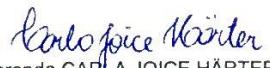
ORIENTADOR: KLEBER TOMAS DE RESENDE

COORIENTADORA: MARCIA HELENA MACHADO DA ROCHA FERNANDES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. MARCIA HELENA MACHADO DA ROCHA FERNANDES
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Pesquisador Dr. RAFAEL CANONENCO DE ARAÚJO
Divisão de Ruminantes / GRASP - Curitiba/PR


Pós-doutoranda CARLA JOICE HÄRTER
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 03 de julho de 2017

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

RAIZA FELISMINO SILVEIRA – Filha de Francisco Carlos da Silveira e Edilene Felismino Silveira, nascida em Fortaleza, Ceará, em 28 de março de 1993. Em agosto de 2010, iniciou o Curso de Graduação em Zootecnia na Universidade Federal do Ceará - UFC onde obteve o título de bacharel em Zootecnia em dezembro de 2014. Em fevereiro de 2015, ingressou no Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Unesp / FCAV), Jaboticabal - SP, sob a orientação do Prof. Dr. Kleber Tomás de Resende e coorientação da Dra. Márcia Helena Machado da Rocha Fernandes finalizando o mesmo em julho de 2017.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser mas, graças a Deus, não sou o que era antes.”
Martin Luther King

DEDICATÓRIA

À minha mãe Edilene Felismino Silveira e ao meu pai Francisco Carlos da Silveira por serem tudo que há de mais importante na minha vida e por sempre me apoiarem nas minhas escolhas.

Ao meu irmão Osmar por conseguir vencer comigo as barreiras físicas e manter uma convivência virtual muito forte.

Aos meus lindos sobrinhos Juan e Mirian: vocês são a luz da minha vida.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus primeiramente, por me dar o dom da vida e renovar minhas esperanças mesmo nos dias difíceis. “Deem graças em todas as circunstâncias, pois esta é a vontade de Deus para vocês em Cristo Jesus” 1 Tessalonicences 5:18.

Aos meus pais, Carlos e Edilene e ao meu querido irmão, Osmar, que souberam entender minha ausência durante esses anos e nunca me cobraram por isso, pelo contrário, sempre foram amorosos e confiantes, muitas vezes mais do que eu mesmo, sempre torceram por mim e me amaram incondicionalmente. Agradeço também aos meus sobrinhos, Juan e Mirian, pequenas luzes da minha vida, que me ensinaram um amor puro do qual eu jamais havia experimentado. Mesmo estando sempre tão distante, eu amo vocês com todo meu coração. Essa conquista foi para vocês. “A vida de quem inventa de voar é paradoxal, todo dia. É o peito eternamente dividido. É chorar porque queria estar lá, sem deixar de querer estar aqui. É ver o céu e o inferno na partida, o pesadelo e o sonho na permanência. É se orgulhar da escolha que te ofereceu mil tesouros e se odiar pela mesma escolha que te subtraiu outras mil pedras preciosas.”

Às minhas queridas amigas de casa, Marina, Flávia, Stefany, Maria Clara e Cíntia, por todas as festas, risadas, pelo companheirismo, pela convivência. Vocês são as irmãs que a vida me permitiu escolher. Obrigada Cíntia por me tirar de casa e me levar para as festas quando tudo que eu queria era dormir; foram ótimos nossos momentos juntas. Obrigada Gari, pelas conversas, risadas, troca de experiências, por ser tão meiga e doce (quase). Obrigada Ste pelas conversas sobre livros, séries e pelas indicações; você é um amor (meio desastrada, mas um amor). Obrigada Flavinha por ser uma pessoa tão doce e com quem eu aprendo tanto, sempre disposta a ouvir, aconselhar e sempre tão empenhada em ajudar; você é uma pessoa incrível, linda por dentro e por fora. Um agradecimento especial à Marineth, que foi e é mais do que uma amiga, é uma irmã, companheira, que está pronta pra enfrentar o que der e vier do meu lado. Impossível ficar triste com você por perto, que sempre me arranca risadas nos momentos mais improváveis. Um ser humano que tem um coração gigante, que quase nem cabe dentro do corpo. Sempre pra cima, feliz, alegre, sorridente e, que quando não estava assim, era porque a situação era muito grave. Você ocupa um espaço enorme no meu coração. Aproveito para

agradecer às nossas pestinhas também, Shakira e Clara Maria, por sujarem nossa casa e preencherem nossos corações com tanto amor.

Aos professores e membros da equipe Cabritolândia, que me acompanharam durante o período do mestrado, me orientaram e me passaram ensinamentos que levarei para a vida. Um agradecimento especial ao Bruno, que estava sempre preocupado e disposto a ouvir os problemas e me aconselhar da forma mais racional. Um agradecimento especial à Márcia e Kléber, que me orientaram de forma mais próxima e me mostraram qual caminho seguir. Um agradecimento especial à professora Izabelle que me mostrou a direção em momentos turbulentos. Obrigada Leandro, Marcelo, Anaiane, Julian, Marina, Rebeca, Letícia, Amélia companheiros de sala, de estudo, de dúvidas, de bar, sempre alegres, confiantes e dispostos a ajudar.

Aos meus amigos de graduação, que até hoje divertem meus dias pelo whatsapp, Érica, Gleyson, Walisson, Theyson. Nesse momento eu preciso dedicar um agradecimento especial à minha amiga/prima/irmã Tafnes, um presente que a graduação me trouxe, que me proporcionou tantos momentos divertidos e de risadas sem fim. Eu não pensei que fosse passar um ano inteiro sem que tivéssemos nossa tradicional noite do pijama/fofocas, não pensei que pudéssemos estar mais distantes do que quando eu me mudei para São Paulo. Mas de qualquer forma, nossa amizade nunca ficou abalada pela distância, nada que horas no telefone não conseguissem resolver. Minha saudade de você, da Neném e do Gleyson (que não suportou a saudade e veio me visitar) é diária. E essa conquista eu dedico também a vocês.

A uma amiga muito querida e especial, Kamilla Maciel. Nossa amizade já ultrapassou os 15 anos e eu sei que se perpetuará por toda a vida. Nós, que éramos Batman e Robin na escola, hoje estamos tão distantes. Mas é bom saber que mesmo com toda a distância, você se faz tão presente na minha vida. Minha irmã. Obrigada por tudo.

Ao Lucas Velloso, que esteve comigo durante as análises laboratoriais, sempre me ouvindo reclamar, pois não tinham dado certo e eu teria que repeti-las. Que esteve comigo no momento da minha qualificação, em que eu achei que não suportaria tanta pressão e ansiedade. Que esteve comigo na defesa, onde eu já não

sabia mais de onde tirar forças para continuar a caminhada. Que consegue passar os finais de semana em casa, vendo séries ou filmes comigo e que ainda assim diz que não enjoa da minha cara. Que sempre me surpreende nos momentos mais inesperados. Que é meu amigo, companheiro, meu ombro para chorar quando a saudade de casa aperta o peito e que me faz rir mais do que ninguém mesmo com tanta piada sem graça. Você esteve ao meu lado dizendo que tudo daria certo. Pois deu mesmo. Obrigada por ser você. Obrigada por existir e obrigada por continuar do meu lado mesmo diante as adversidades. Obrigada por ser meu presente.

Aos meus avós, Osmar (*in memorian*), Francisca, Neusa e Estênio, por serem tão maravilhosos e, mesmo que eu passe tanto tempo sem vê-los, o espaço que vocês ocupam no meu coração nunca diminui.

Aos meus tios, Eliane e Garcez, minhas primas Adrielle, Deidy, Brenda, Rayssa e Pedro, por me receberem sempre de braços abertos durante as minhas várias estadias em São Paulo. Vocês são a família mais próxima e é muito bom saber que sou tão amada mesmo estando tão longe da minha casa. Vocês são como meus pais, minha casa longe de casa. Obrigada por tudo.

À UNESP Jaboticabal, que me acolheu e me transmitiu tantos ensinamentos pessoais e profissionais. Ao CNPq e CAPES pela concessão das bolsas durante meu período de mestrado.

Ao Laboratório de Caprinocultura, minha segunda casa durante os oito meses intensos de experimento. Aos cabritinhos que diariamente aprontavam algo diferente e, na maioria das vezes, alegravam meus dias. Aos funcionários Juninho e Carlinhos pela ajuda durante o experimento.

Ao Laboratório de Nutrição Animal, ao Sr. Orlando e Ana Paula pela ajuda durante as análises laboratoriais, pelas dicas e ensinamentos. Ao Laboratório de Forragicultura e ao Abmael pela ajuda com as análises.

A todos que direta ou indiretamente ajudaram na conclusão desse trabalho, muito obrigada.

Sumário

Capítulo 1. Considerações Gerais.....	18
1. Introdução	18
2. Objetivo	19
3. Revisão de Literatura	19
3.1 Utilização de nitrato na alimentação animal	19
3.2 Métodos de estimativa de produção de metano em ruminantes	22
3.3 Calorimetria indireta e produção de calor.....	23
3.4 Partição de energia e oxidação do substrato	25
3.5 Produção de proteína microbiana	27
4. Referências bibliográficas	28
Chapter 2: Energy partition and nitrogen utilization by growing goats fed encapsulated calcium nitrate.....	34
ABSTRACT:	34
Introduction.....	35
Material and methods.....	36
Statistical Analysis.....	41
Results	41
Discussion	45
Conclusions.....	50
References.....	51


CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado **“Partição de energia, oxidação do substrato e utilização de nitrogênio por caprinos em crescimento alimentados com nitrato como um substituto do farelo de soja e ureia”**, protocolo nº 22774/15, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Marcia Helena Machado da Rocha Fernandes, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 04 de dezembro de 2015.

Vigência do Projeto	01/01/2016 a 03/03/2017
Espécie / Linhagem	Caprinos
Nº de animais	Doze
Peso / Idade	25 KG / 8 meses
Sexo	Machos
Origem	Laboratório de Estudos em Caprinocultura

Jaboticabal, 04 de dezembro de 2015.


Profª Drª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

Partição de energia e utilização de nitrogênio por caprinos em crescimento alimentados com nitrato de cálcio encapsulado

RESUMO

O nitrato de cálcio encapsulado (NCE) tem sido estudado nos últimos anos como uma fonte de nitrogênio não proteico (NNP) e representa uma alternativa ao uso do hidrogênio livre no ambiente ruminal, reduzindo assim a emissão de metano e possibilitando uma maior eficiência no uso da energia. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o uso do nitrato de cálcio encapsulado como substituto do farelo de soja na partição de energia, oxidação do substrato e síntese de N microbiano. Para isso, doze caprinos machos castrados em crescimento, com peso inicial de 21,95 kg \pm 3,19 kg foram usados em um quadrado latino 3 x 3 quadruplicado com três períodos de 48 dias, agrupados pelo peso corporal e distribuídos aleatoriamente em um dos três tratamentos ECN0(SBM) – controle baseado em farelo de soja; ECN1.25 – 1,25% de NCE na matéria seca; ECN2.5 – 2,5% de NCE na matéria seca. Cada período consistia de 21 dias de adaptação, 5 dias de ensaio de metabolismo e 15 dias de mensuração de gases. Entre os períodos foi feito um *washout* de 7 dias onde todos os animais recebiam a dieta controle. Os dados foram analisados usando o procedimento MIXED do SAS (versão 9.4; SAS Inst., Cary, NC, USA). O modelo usado foi $Y_{jkm} = \mu + LS_i + Period_j + Ani(LS)_{ki} + Treat_m + \epsilon_{ijkm}$. Quando significativo, o efeito de níveis de NCE foi decomposto em dois contrastes polinomiais ortogonais (linear e quadrático). A significância declarada foi de $P < 0,05$. As variáveis de produção de calor (PC) e produção de calor em jejum (PCJ) foram covariadas com a ingestão de energia metabolizável. A PC não foi influenciada pelos tratamentos ($P > 0,05$) e a PCJ mostrou uma redução de aproximadamente 22% ($P < 0,05$) entre o tratamento ECN0(SBM) e ECN2.5. A emissão de metano reduziu 0,21g pra cada grama de nitrato ingerido. A inclusão de aproximadamente 1% de NCE na material seca resultou em um máximo consumo de energia digestível e metabolizável. Além disso, a PCJ foi menor com a inclusão de NCE mostrando um efeito residual em caprinos em crescimento. Não foi observado efeito significativo na síntese de N microbiano.

PALAVRAS-CHAVE: calorimetria indireta, digestibilidade, gases de efeito estufa, respirometria

Energy partition and nitrogen utilization by growing goats fed encapsulated calcium nitrate

ABSTRACT:

Encapsulated calcium nitrate (ECN) has been studied in last years as a source of non-protein nitrogen (NPN) and represents an alternative to use of free hydrogen in the ruminal environment, thus reducing the emission of methane and a higher efficiency in use of energy. Thus the aim of this study was to assess the impact of the use of encapsulated calcium nitrate as a substitute for soybean meal in the energy partition, substrate oxidation, and microbial N synthesis. For this, twelve castrated male growing goats, with initial average weight of 21.95 kg \pm 3.19 kg were used in a quadruplicated 3 x 3 Latin square design with three 48-d periods, grouped by body weight (BW) and randomly assigned to three diets: ECN0(SBM) – control based on soybean meal; ECN1.25 - 1.25% of encapsulated calcium nitrate (ECN) on dry matter (DM) basis; ECN2.5 - 2.5% of ECN on DM basis. Each period comprised 21 days for adaptation, five days for metabolism trial (d22 to d26) and 15 days for gas measurements (d27 to d38). Between periods, a washout period was provided for 7 d during which the control diet was fed. The data were analyzed using MIXED procedure of SAS (version 9.4; SAS Inst., Cary, NC, USA). The model used for each treatment was the following: $Y_{jkm}: \mu + LS_i + Period_j + Ani(LS)_{ki} + Treat_m + \epsilon_{ijkm}$. When significant, the effect of levels of ECN was decomposed into two orthogonal polynomial contrasts (linear and quadratic). Significance was declared at $P < 0.05$. The heat production (HP) and fast heat production (FHP) were covariates with the metabolizable energy intake. The HP was not influenced by treatments ($P > 0.05$) and FHP showed a reduction of approximately 22% ($P < 0.05$) between ECN0(SBM) and ECN2.5. The emission of methane reduced 0.21 g for each g of nitrate intake. The inclusion of approximately 1% of ECN on DM results in a maximum DE and ME intake. Also the FHP is lower with ECN inclusion showing a residual effect on growing goats. No effect is observed in MicN synthesis.

KEYWORDS: digestibility, greenhouse gas, indirect calorimetry, respirometry

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

Table 1. Feed ingredients and chemical composition of experimental diets.....	36
Table 2. Blood effects of encapsulated calcium nitrate	41
Table 3. Effects of encapsulated calcium nitrate (ECN) on intake and total-tract apparent digestibility in growing goats.....	42
Table 4. Effects of encapsulated calcium nitrate (ECN) on N digestibility and N utilization in growing goats	43
Table 5. Effects of ECN on enteric CH ₄ emissions and CH ₄ emission per kilogram of DMI in growing goats.....	43
Table 6. Effects of ECN on energy balance in growing goats	44
Table 7. Oxidation of protein, carbohydrate and fat and non-protein respiratory quotient of growing goats	45

LISTA DE ABREVIATURAS

CAPÍTULO 1

CH ₄	Metano
CI	Calorimetria indireta
CO ₂	Gás carbônico
DP	Derivados de purina
EB	Energia bruta
ED	Energia digestível
EL	Energia líquida
GEE	Gases de efeito estufa
H ₂	Hidrogênio
NCE	Nitrato de cálcio encapsulado
NH ₄	Amônia
NNP	Nitrogênio não proteico
NO ₂ ⁻	Nitrito
NO ₃ ⁻	Nitrato
O ₂	Oxigênio
PM	Proteína metabolizável
Pmic	Proteína microbiana
PNDR	Proteína não degradável no rúmen
QR	Quociente respiratório

CAPÍTULO 2

ADF	Acid detergent fiber
ATP	Adenosine triphosphate
BW	Body weight
C	Carbon
Ca	Calcium
CP	Crude protein
DM	Dry matter
DMI	Dry matter intake
ECN	Encapsulated calcium nitrate
FHP	Fast heat production
GE	Gross energy
HCO ₃ ⁻	Bicarbonate
HP	Heat production
MetHb	Methemoglobin
MicN	Microbial nitrogen
MicP	Microbial protein
N	Nitrogen
NDF	Neutral detergent fiber
NPN	Non-protein nitrogen
OMI	Organic matter intake
OXCHO	Carbohydrate oxidation
OXF	Fat oxidation
OXP	Protein oxidation
pCO ₂	Carbon dioxide pressure

RE Retained energy
RQ Respiratory quotient

Capítulo 1. Considerações Gerais

1. Introdução

Dados do senso agropecuário (IBGE, 2015) mostram que a quantidade de cabeças de animais ruminantes é superior a 249 milhões de cabeças. Com base nesse elevado número e considerando o aumento constante da produtividade pecuária, esta vem sendo apontada como uma das principais causas do efeito estufa (GEE). A emissão global de metano advinda de processos entéricos é estimada em 80 milhões de toneladas por ano e esse valor corresponde a aproximadamente 22% do total de emissão de CH_4 provenientes de fontes antrópicas como esterco (7%), culturas de arroz (17%), tratamento de águas de esgoto (7%), combustível fóssil (28%), terras cultivadas (8%) e queimadas (11%) (USEPA, 2000). Sabendo que animais ruminantes produzem gases durante o processo de fermentação ruminal, entre eles o metano (ZOTTI E PAULINO, 2009) que está entre os gases responsáveis pelo efeito estufa, estratégias que reduzam a emissão desse gás, que representa uma menor eficiência energética e um problema para o meio ambiente, vem sendo cada vez mais buscadas (MARTIN et al.,2010).

Apesar de apresentar pontos negativos, a existência do metano no ambiente ruminal é um fator necessário para a manutenção do ambiente e do bom funcionamento dos microrganismos, uma vez que ao utilizarem o H_2 presentes no ambiente ruminal, os organismos metanogênicos regeneram cofatores como NAD^+ e NADP^+ que são fundamentais para a manutenção de todos os processos fermentativos no rúmen, ou seja, a pressão parcial de H_2 no rúmen deve ser mantida baixa para permitir a ação das hidrogenases. Assim, ao buscarem-se estratégias que reduzam a emissão desse gás, deve-se atentar para uma modificação na utilização do hidrogênio presente no ambiente ruminal (JOBLIN, 1999).

O nitrato vem recebendo atenção especial nos últimos anos por representar uma alternativa na utilização do H_2 que está livre no ambiente ruminal, reduzindo assim a produção de metano e funcionando também como uma fonte de nitrogênio não

proteico, podendo substituir parte da energia verdadeira da dieta. Ao chegar no ambiente ruminal, o nitrato será reduzido a nitrito e posteriormente à amônia, reação mais favorável energeticamente que a redução do CO_2 a metano e que capta H_2 do ambiente (ALLISON AND REDDY, 1984). No entanto, ainda não se sabe ao certo como o produto interfere na utilização de energia pelos animais e nem sua relação com a produção de proteína microbiana, já que o produto final da redução do nitrato é amônia e esta está diretamente relacionada à produção de proteína microbiana.

4. Referências bibliográficas

Allison, M. J., and C. A. Reddy. 1984. Adaptations of gastrointestinal bacteria in response to changes in dietary oxalate and nitrate. Pages 248–256 in Third Int. Symp. Microbial Ecology. K. M. J. and C. A. Reddy, ed. **American Society of Microbiology**, Washington, DC.

Boadi, D., C. Benchaar, J. Chiquette, and D. Masse. 2004. Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: Update review. **Canadian Journal of Animal Science** 84: 319-335.

Ben-Porat M, Sideman S, Bursztein S. 1983. Energy metabolism rate for fasting and postabsorptive subjects. **Am J Physiol.** 244: R764-R769.

BRODERICK, G.A, MERCHEN, N.R. 1992. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. **J. Dairy Sci.**, 75:2618.

Brouwer, E. 1965. Report of sub-committee on constants and factors. In: K. L. Blaxter (ed.) 3rd **Symposium Energy Metabolism**. No. 11. p 441-443. EAAP Publ., London, UK.

Dehority, B. A., 2003. Rumen microbiology. Nottingham: Nottingham University Press. 372 p.

Derno, M.; Elsner, H.G.; Paetow, E.A.; Scholze, H.; Schweigel, M., 2009. Technical note: A new facility for continuous respiration measurements in lactating cows. **J. Dairy Sci.**, 92, 2804–2808.

DIENER. J. R. C. 1997. Calorimetria indireta. **Rev Ass Med Brasil.** 43(3): 245-53

El-Zaiat, H. M. et al. 2014. Encapsulated nitrate and cashew nut shell liquid on blood and rumen constituents, methane emission, and growth performance of lambs. **Journal of Animal Science** 92: 2214-2224.

FAO. 2010. Greenhouse Gas Emissions from the Dairy Sector: A Life Cycle Assessment. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy.

Fernandez, C., M. G. Lopez, and M. Lachica. 2012. Heat production determined by the RQ and CN methods, fasting heat production and effect of the energy intake on substrates oxidation of indigenous Manchega sheep. **Animal Feed Science and Technology** 178: 115-119.

Guo, W. S., D. M. Schaefer, X. X. Guo, L. P. Ren, and Q. X. Meng. 2009. Use of Nitrate-nitrogen as a Sole Dietary Nitrogen Source to Inhibit Ruminal Methanogenesis and to Improve Microbial Nitrogen Synthesis In vitro. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences** 22: 542-549.

Hulshof, R. B. A. et al. 2012. Dietary nitrate supplementation reduces methane emission in beef cattle fed sugarcane-based diets. **Journal of Animal Science** 90: 2317-2323.

Ida M. L. D. Storm 1, Anne Louise F. Hellwing 2, Nicolaj I. Nielsen 3 and Jørgen Madsen 1, 2012. Methods for Measuring and Estimating Methane Emission from Ruminants. **Animals**, 2, 160-183; doi:10.3390/ani2020160

IPCC. Climate Change 2007: Mitigation of Climate Change. IPCC Fourth Assessment Report (AR4). 2007. Available online: http://www.ipcc.ch/publications_and_data/ar4/wg3/en/contents.html (accessed on 20 December 2016).

Jentsch, W.; Schweigel, M.; Weissbach, F.; Scholze, H.; Pitroff, W.; Derno, M., 2007. Methane production in cattle calculated by the nutrient composition of the diet. **Arch. Anim. Nutr.** 61, 10–19.

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

Johnson, K.; Huyler, M.; Westberg, H.; Lamb, B.; Zimmerman, P., 1994. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a SF6 tracer technique. **Environ. Sci. Technol.** 28, 359–362.

Kleiber, M. *Bioenergetica Animal: El fuego de la vida.* 1 ed. Zaragoza: Editorial Acribia, 1972. 428p.

Kurihara, M.; Magner, T.; Hunter, R.A.; McCrabb, G.J., 1999. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. **British Journal of Nutrition**, v.81, p.227-234.

Lee, C., R. C. Araujo, K. M. Koenig, and K. A. Beauchemin. 2015a. Effects of encapsulated nitrate on eating behavior, rumen fermentation, and blood profile of beef heifers fed restrictively or ad libitum. **Journal of Animal Science** 93: 2405-2418.

Lee, C., R. C. Araujo, K. M. Koenig, and K. A. K. A. Beauchemin. 2015b. Effects of encapsulated nitrate on enteric methane production and nitrogen and energy utilization in beef heifers **Journal of Animal Science**: 2391-2404.

Lee, C., and K. A. Beauchemin. 2014. A review of feeding supplementary nitrate to ruminant animals: nitrate toxicity, methane emissions, and production performance. **Canadian Journal of Animal Science** 94: 557-570.

Li, L., J. Davis, J. Nolan, and R. Hegarty. 2012. An initial investigation on rumen fermentation pattern and methane emission of sheep offered diets containing urea or nitrate as the nitrogen source. **Animal Production Science** 52: 653-658.

Livesey G, Elia M. 1988. Estimation of energy expenditure, net carbohydrate utilization, and net fat oxidation and synthesis by indirect calorimetry. **Am J Clin Nutr.** 47: 608-28.

Lopez, M. C., and C. Fernandez. 2013. Energy partitioning and substrate oxidation by Murciano-Granadina goats during mid lactation fed soy hulls and corn gluten feed blend as a replacement for corn grain. **Journal of Dairy Science** 96: 4542-4552.

Madsen, J.; Bjerg, B.S.; Hvelplund, T.; Weisbjerg, M.R.; Lund, P., 2010. Methane and carbondioxide ration in excreted air for quantification of the methane prodction from ruminants. **Livest. Sci.** 129, 223–227.

Martin, C. et al., 2008. Methane output and digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, n. 10, p. 2642 – 2650.

Martin, C., D. P. Morgavi, and M. Doreau. 2010. Methane mitigation in ruminants: From microbe to the farm scale. **Animal** 4:351–365.

Morais, J. A. S.; Berchielli, T. T.; Reis, R. A., 2006 Aditivos: In: Berchielli, T. T.; Pires, A. V.; Oliveira, S. G. Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal: FUNEP. p. 111 – 140

Navarro-Villa, A.; O'Brien, M.; Lopez, S.; Boland, T.M.; O'Kiely, P. 2011 Modifications of a gas production technique for assessing *in vitro* rumen methane production from feedstuffs. **Anim. Feed Sci. Technol.** 166–167, 163–174.

Newbold, J. R. et al. 2014. The effect of incremental levels of dietary nitrate on methane emissions in Holstein steers and performance in Nelore bulls. **Journal of Animal Science** 92: 5032-5040.

Oliveira, V. S.; Valença, R. d. L.; Santana Neto, J. A.; Santana, J. C. S.; Santos, C. B.; Lima, I. G. S. 2014. Utilização da técnica de produção de gás *in vitro* para estimar a digestibilidade dos alimentos. **Revista Científica de Medicina Veterinária.** ISSN:1679-7353. Ano XII-Número 23

Owens, F.N.; Goetsch, A.L. Fermentación ruminal. 1993. In: CHURCH, D.C. El ruminante, fisiología digestiva y nutrición: Zaragoza: Acríbia. p.159-190

Simonson DC, DeFronzo R. 1990 Indirect calorimetry: methodological and interpretative problems. **Am J Physiol**. 258: E399-E412.

Swyer PR. 1991. Assumptions used in measurements of energy metabolism. **J Nutr**. 121: 1.891-6.

Timmermans Jr., S.J.; Johnson, L.M.; Harrison, J.H., 2000. Estimation of the flow of microbial nitrogen using milk uric acid or allantoin. **Journal of Dairy Science** , v.83, p.1286-1299.

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

van Zijderveld, S. M. et al. 2010. Nitrate and sulfate: Effective alternative hydrogen sinks for mitigation of ruminal methane production in sheep. **Journal of Dairy Science** 93: 5856-5866.

van Zijderveld, S. M. et al. 2011. Persistency of methane mitigation by dietary nitrate supplementation in dairy cows. **Journal of Dairy Science** 94: 4028-4038.

Yan, T.; Mayne, C.S.; Porter, M.G., 2006. Effects of dietary and animal factors on methane production in dairy cows offered grass silage based diets. *Int. Congr. Ser.* 1293, 123–126

Zhou, Z. M., Z. T. Yu, and Q. X. Meng. 2012. Effects of nitrate on methane production, fermentation, and microbial populations in in vitro ruminal cultures. **Bioresource Technology** 103: 173-179.

Zimmerman, P.R. 1993 System for Measuring Metabolic Gas Emissions from Animals. US Patent 5,265,618.

Zotti and Paulino, 2009 Metano na produção animal: emissão e minimização de seu impacto. Ecologia de Pastagens, Curso de Pós-graduação em Produção Animal Sustentável. Instituto de Zootecnia, APTA/SAA