



AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DO GÁS TRAÇADOR SF₆ (recipiente e dias de coleta) PARA MENSURAÇÃO DA EMISSÃO DE METANO ENTÉRICO EM NOVILHOS NELORE

Pedro Bassanezi **Fernandes**¹; Leonardo Machestropa **Arikawa**²; Sarah Bernardes **Gianvecchio**³;
Leandro Sannomiya **Sakamoto**⁴; Maria Eugênia Zerlotti **Mercadante**⁵

Nº 20710

RESUMO – O estudo teve como objetivo avaliar a técnica do gás traçador SF₆ na mensuração da emissão de metano entérico em bovinos da raça Nelore, utilizando dois recipientes coletores: cangas (PVC) e cilindros (Inox). Foram avaliados 289 animais, sendo 97 utilizando cangas e 192 animais utilizando cilindros. O período de mensuração do metano entérico foi de até 7 dias consecutivos com troca diária do recipiente de coleta, a fim de obter 5 coletas válidas para cada animal. A emissão diária de metano entérico (CH₄GD, em g/dia) foi analisada pelo programa estatístico SAS, e avaliada por meio das médias, variâncias, repetibilidade e correlação. Além do efeito do recipiente coletor, também foram considerados no modelo os efeitos da cápsula de SF₆(emissão), pressão inicial (vácuo) dos recipientes, consumo de matéria seca (CMS) dos animais, e grupo de coleta. Os resultados mostram que a emissão diária de metano entérico (CH₄GD) utilizando cilindros é mais sensível aos efeitos da cápsula de SF₆, da pressão inicial e do CMS (P<0,0001), enquanto que a CH₄GD utilizando canga foi sensível ao efeito do CMS (P<0,0001). Esse resultado também foi observado nos menores valores das variâncias entre animal e dentro de animal para o recipiente de PVC, porém a CH₄GD utilizando cilindros apresentou maior repetibilidade em comparação com canga (53% vs. 27%). Levando em consideração apenas os valores médios de CH₄GD e as correlações de cada dia de coleta, pode-se sugerir um mínimo de 3 dias de coleta, entretanto a combinação da baixa repetibilidade com baixa variância para a canga, e da média repetibilidade com alta variância para o cilindro, reforça a importância de 5 dias de coleta de metano entérico utilizando a técnica do gás traçador SF₆. Mais estudos são necessários para melhor observação de diferenças entre os recipientes coletores e também para definição do mínimo de dias de coleta pela técnica do gás traçador SF₆.

Palavras-chaves: canga de PVC, cilindro de inox, duração da coleta, metano, técnica do gás traçador SF₆.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Zootecnia - UNESP, Botucatu-SP; pedrob0707@gmail.com.

2 Colaborador, Graduação em Zootecnia -UNESP, Jaboticabal-SP.

3 Colaboradora, Mestranda -Instituto de Zootecnia- Centro de Pesquisa de Bovinos de Corte, Sertãozinho-SP.

4 Coorientador, Pós doutorando -Instituto de Zootecnia- Centro de Pesquisa de Bovinos de Corte-SP.

5 Orientador, Pesquisador -Instituto de Zootecnia- Centro de Pesquisa de Bovinos de Corte-SP.



Evaluation of the SF₆ tracer gas technique (container and collection days) for measurement of the enteric methane emission in Nellore steers

ABSTRACT –The purpose of this study was to evaluate the SF₆ tracer gas technique in the measurement of enteric methane in the Nellore cattle using two types of containers: Canisters (PVC) and Cylinders (inox). The study was conducted with 289 animals, which 89 used the canisters containers and the other 192, cylinders containers. The enteric methane measurement period was up to seven consecutive days with daily container replacement, in order to obtain five valid samples for each animal. The daily enteric methane (CH₄GD, in g/day) was analyzed using the SAS software, by means comparison, variability within and between animals, repeatability, and correlation. The effects of container as well as their initial pressure (vacuum), the SF₆ capsule (emission), dry matter intake (DMI) of the animal, and collection group were included in the model. The results showed that the CH₄GD using cylinders is more sensible to the effects of the SF₆ capsule, initial pressure, and DMI ($P < 0.0001$), while CH₄GD using canister showed effects of the DMI ($P < 0.0001$). That result was also observed in low values of variance between and within animals for the canisters containers; however, cylinders showed a larger repeatability in comparison with the canister containers (53% vs. 27%). Taking in consideration only the average values of CH₄GD and the correlations between every collect day, it can be suggested at least 3 days of sample collection. Although low repeatability and low variance for the canister, and medium repeatability with high variance for the cylinder combined, reinforces the importance of collecting enteric methane samples for 5 days using the SF₆ tracer gas technique. More studies are necessary for a better observation of the differences between containers, and for defining the minimum period for sample collection.

Keywords: collection duration, methane, SF₆ tracer gas technique, stainless steel cylinder, PVC canister.



1 INTRODUÇÃO

O setor pecuário enfrenta o difícil desafio de reduzir as emissões de GEE enquanto responde a um crescimento significativo da demanda por produtos (projetado para +70% entre 2005 e 2050), impulsionado pela crescente população mundial (9,6 bilhões até 2050) e pelo aumento da riqueza e urbanização (FAO, 2011). As intervenções possíveis para reduzir as emissões são, em grande parte, baseadas em tecnologias e práticas que melhoram a eficiência da produção animal e do rebanho. Uma gama de tecnologias promissoras, tais como aditivos alimentares, vacinas e métodos de seleção genética, têm forte potencial para reduzir as emissões (Gerber et al., 2013).

Com o desenvolvimento e aperfeiçoamento das técnicas de mensuração da emissão individual de metano entérico, tais como câmeras respirométricas (Donoghue et al., 2016), técnica do Fourier transform infrared (Lassen e Løvendahl, 2016), GreenFeed systems® (Hristov et al., 2015) e gás traçador SF₆ (Deighton et al., 2014), atualmente, é possível incluir características relativas à emissão de metano nos programas de melhoramento genético de bovinos. As estimativas de herdabilidade de medidas de emissão de metano entérico são de média magnitude (0,19 a 0,30, Donoghue et al., 2016; Hayes et al., 2016; Lassen e Løvendahl, 2016; Manzanilla-Pech et al., 2016) possibilitando ganho genético por seleção. Entretanto, a sua mensuração é difícil e de alto custo.

A técnica do gás traçador hexafluoreto de enxofre (SF₆), usada extensivamente na Nova Zelândia, Canadá, Austrália e EUA, e também em países do norte europeu como Suécia e Noruega (Storm et al., 2012), é a metodologia de mensuração mais reconhecida e utilizada em bovinos. Essa técnica foi desenvolvida por Zimmerman (1993) e implantada por Johnson et al. (1994). A ideia básica deste método é que a emissão de metano pode ser mensurada se a taxa de um gás traçador (que seja não tóxico, fisiologicamente inerte, estável, e que se misture com os gases no rúmen da mesma maneira que o CH₄) no rúmen é conhecida. Esta técnica possibilita estimar a emissão de metano de grande número de indivíduos sem a necessidade de confiná-los.

No Brasil, Primavesi et al. (2004) adaptaram e validaram a técnica utilizando materiais produzidos no país. Apesar das dificuldades para se encontrar diversos materiais com características muito específicas, foi possível viabilizar o processo completo para determinação do metano entérico, através de sistema coletor com câmara de captação de ar ruminal feita com tubos de material PVC (policloreto de vinil).

Mais recentemente, Deighton et al. (2014) identificaram, corrigiram erros substanciais e validaram a técnica comparando as emissões estimadas por esta técnica modificada do gás traçador SF₆ e por câmara respirométrica. As estimativas de emissão de metano obtidas por SF₆ e por câmeras respirométricas foram estatisticamente similares, e o coeficiente de variação entre animais



(cerca de 7%) foi similar para as duas técnicas, sugerindo que a técnica modificada do gás traçador SF₆ é o método mais acurado depois das câmeras respirométricas.

Há uma grande diversidade de formas, tamanhos e materiais de câmara coletora do ar ruminal (PVC, alumínio e aço inoxidável). Independentemente do tipo de câmara coletora, recomenda-se que sejam realizadas no mínimo 5 dias consecutivos de coleta de metano pela técnica do gás traçador SF₆. Esse procedimento garante que o erro na emissão média de metano seja limitado (aproximadamente 6%), além de minimizar o viés da contribuição do consumo de matéria seca no dia da coleta (Primavesi et al, 2004; Deighton et al., 2014). Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os resultados de emissão de metano utilizando a técnica do gás traçador SF₆ em bovinos da raça Nelore, e verificar a influência do recipiente coletor de amostra (cangas de PVC e cilindros de aço inoxidável), além do efeito de outras variáveis como taxa de emissão da cápsula de SF₆, pressão inicial dos recipientes coletores e consumo de MS sobre a técnica de mensuração.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O banco de dados utilizado para o desenvolvimento do trabalho foi proveniente de experimentos conduzidos no Centro Avançado de Pesquisa de Bovinos de Corte, órgão do Instituto de Zootecnia do Estado de São Paulo, localizado no município de Sertãozinho, SP.

Em um dos experimentos foram avaliados 97 novilhos Nelore do Instituto de Zootecnia, nascidos em 2010 e 2011, com a técnica descrita por Primavesi et al. (2004), utilizando como câmara coletora do ar ruminal uma canga de PVC (policloreto de vinil) de 2,2 litros de volume, trocada a cada 24 horas, por 5 dias consecutivos. Ao final da coleta todas as cangas foram enviadas ao laboratório da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP, para análise dos gases por cromatografia gasosa para o cálculo da taxa de emissão de CH₄ em g/dia (CH₄GD).

Em outro experimento foram avaliados 70 animais Nelore nascidos em 2017 e 122 animais nascidos em 2018, todos do Instituto de Zootecnia, utilizando a metodologia do gás traçador SF₆ modificada, como descrita por Deighton et al. (2014), na qual a câmara coletora do ar ruminal é um cilindro de aço inoxidável com capacidade para 2 litros, também trocado a cada 24 horas, por 7 dias consecutivos, a fim de obter 5 dias de coleta válidos para cada animal. Ao final da coleta todos os cilindros foram enviados ao laboratório da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos-SP, e Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP, para análise dos gases por cromatografia gasosa para o cálculo da taxa de emissão de CH₄GD.



Os dados foram compilados em planilhas para comparar as emissões captadas entre as cangas de PVC e os cilindros de aço inoxidável. Esse banco de dados foi analisado a fim de obter respostas sobre a técnica do gás traçador SF₆, referente ao recipiente coletor e aos dias de coleta, para assim melhorar a eficiência da técnica de mensuração de metano entérico. Esta comparação foi feita por meio de algumas abordagens estatísticas.

Separadamente para cada recipiente (canga e cilindro), considerando 5 dias de coleta por animal, ajustou-se um modelo linear mixto para a análise de CH₄GD que incluiu os efeitos de classe de grupo de coleta, e as covariáveis lineares de emissão da cápsula de SF₆, pressão inicial do recipiente, e CMS do animal como fixos, e animal e resíduo como efeitos aleatórios (PROC MIXED, SAS, Inst., Inc., Cary, NC). Foram estimadas também as variâncias de CH₄GD entre (s^2_e) e dentro de animal (s^2_d) e a repetibilidade de 5 dias de coleta para cada recipiente. A repetibilidade das medidas diárias de CH₄GD foi calculada como: $s^2_d/(s^2_e + s^2_d)$.

Por meio de modelo contendo somente o efeito da classe de dias de coletas, foram comparadas as médias de CH₄GD de cada animal considerando a média de 5, 4 e 3 dias de coleta.

Outra abordagem foi a análise da variância residual (s^2) de CH₄GD em cada dia de coleta (1 a 5), ajustando o modelo contendo somente o efeito da classe de dias de coletas, e a opção REPEATED, considerando a matriz ANTE(1) para modelar os resíduos. Foram também estimadas correlações de Spearman e Pearson entre cada dia de coleta (1, 2, 3 e 4 dias) e 5 dias, utilizando o procedimento CORR (SAS, INST., INC., CARY, NC). Para visualizar as mudanças das variâncias residuais ao longo dos dias de coleta de metano entérico, foi calculada a variância relativa ($s^2\%$) como sendo o percentual da diferença entre a variância do dia de coleta anterior e a variância do dia de coleta atual, sobre a variância do primeiro dia de coleta (dia 1): $s^2 \% = (s^2 \text{ anterior} - s^2 \text{ atual}) / s^2 (\text{dia 1}) \times 100$ (Marzocchi et al., 2020).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos efeitos avaliados sobre a CH₄GD estão apresentados na Tabela 1. Não houve efeitos da emissão da cápsula de SF₆ e da pressão inicial para a mensuração de CH₄GD utilizando canga de PVC, mas houve efeito do CMS dos animais. A mensuração de CH₄GD feita com o uso do cilindro de inox apresentou maior sensibilidade aos efeitos avaliados, como emissão da cápsula, pressão inicial e CMS.

Segundo Lassey et al. (2001), um ponto a se levar em consideração é a taxa de liberação da cápsula de SF₆. Os autores observaram que a emissão de SF₆ não é linear e sim curva, justificando



que essa curvatura é a pressão interna saturada do SF₆ a temperatura de 39°C a 32 bar, quando o SF₆ não responde a “lei do gás ideal”, perdendo assim sua aptidão à técnica. Além disso, há variações entre os lotes de cápsulas devido à razão desconhecida, podendo ser relacionada com as condições de enchimento das mesmas. Para evitar esse tipo de erro, em cada grupo de coleta as cápsulas devem ser selecionadas levando em consideração o valor médio de emissão e o mesmo lote de enchimento. No presente trabalho, a variação média de emissão da cápsula dentro de cada lote foi de 80 e 167 ng/min respectivamente para cangas e cilindros.

Em relação à pressão inicial (vácuo) dos recipientes coletores na mensuração da emissão de metano entérico foi mantido em todas as coletas um valor padrão de -13 psi.

O consumo de matéria seca (CMS) é um fator de grande relevância, pois pode afetar diretamente a emissão de CH₄, ou seja, quanto maior o consumo de alimentos pelo animal, maior será a emissão de CH₄, por isso deve ser levada em consideração para a análise dos dados. No presente trabalho os dados foram provenientes de experimentos com mensuração do consumo alimentar, sendo que os animais que utilizaram cangas de PVC permaneceram em baias individuais, enquanto os animais que utilizaram cilindros de inox permaneceram em baias coletivas com cochos de alimentação automáticos. Durante a mensuração do CH₄ entérico, foi fornecida a mesma dieta para os animais dentro de cada grupo de coleta, assim como sugerido por Berndt et al. (2014) para garantir maior acurácia nas coletas com períodos de até 5 dias.

Outro ponto importante a se destacar é em relação à utilização de cangas na região do pescoço do animal ou cilindros na região do lombo em testes de eficiência alimentar em que há necessidade de mensuração do CMS. Os cilindros possuem uma vantagem em testes de eficiência alimentar, pois devido sua posição no corpo do animal, o animal consegue se alimentar nos cochos automáticos em baias coletivas. Já a utilização de cangas, pela posição no pescoço, o animal tem que permanecer em baias individuais para a mensuração do CMS.

Tabela 1. Coeficientes de regressão dos efeitos da emissão da cápsula, pressão inicial do recipiente de coleta e consumo de matéria seca dos animais, sobre a taxa de emissão de metano (CH₄GD, em g/dia) de bovinos da raça Nelore, considerando 5 dias de coleta

Variáveis	Canga			Cilindro		
	β	EP	Valor P	β	EP	Valor P
Cápsula, ng/min	0,0171	0,0158	0,2806	0,0289	0,0036	<0,0001
Pressão Inicial, psi	1,4598	0,9913	0,1417	-6,0055	1,3212	<0,0001
Consumo MS, kg	9,5584	1,2519	<0,0001	7,9269	0,7007	<0,0001

¹β: coeficiente de regressão; EP: erro padrão.

Na comparação das médias, não houve diferença para a variável CH₄GD entre 3, 4 e 5 dias de coleta para ambos recipientes (Figura 1).

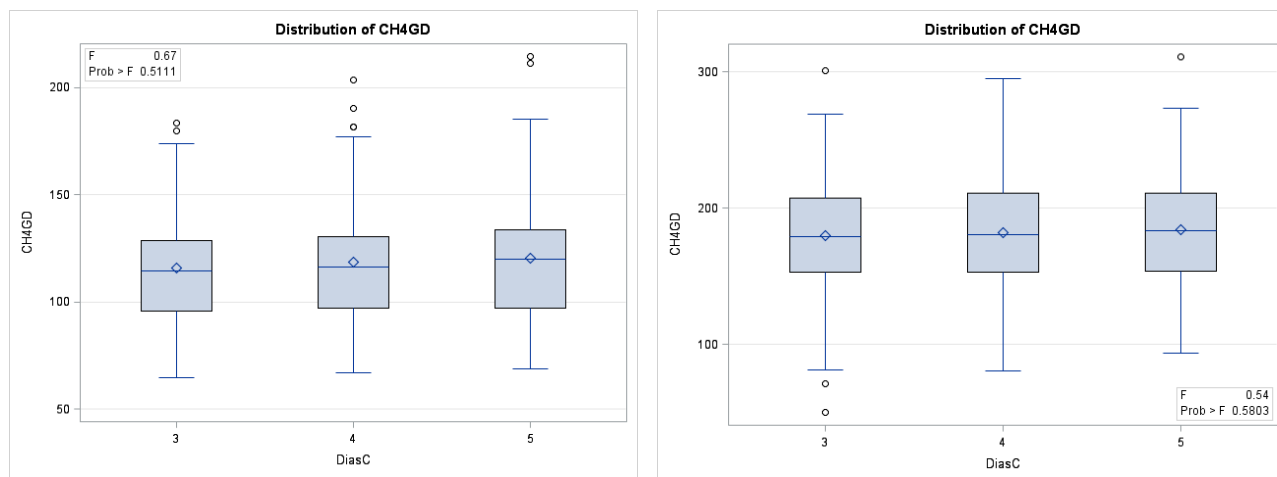


Figura 1. Distribuição dos valores das médias de emissão de metano entérico (CH₄GD, em g/dia) considerando 3, 4 e 5 dias de coleta utilizando cangas de PVC (à esquerda) e cilindros de Inox (à direita).

Na Tabela 2 são apresentadas as variâncias entre e dentro de animal, e a repetibilidade de 5 dias de coleta, por canga e cilindro. A técnica de mensuração utilizando cilindros apresentou repetibilidade maior em comparação ao uso de cangas (53,5 versus 26,6%), porém a utilização de cangas apresentou menor variação em comparação aos valores obtidos com os cilindros, explicando os resultados da Tabela 1.

Há alta variabilidade entre os animais para CH₄GD com a mesma alimentação. Há também grande variabilidade dentro de animal (Pinares-Patiño e Clark, 2008), fazendo com que sejam necessários vários dias consecutivos de coleta para obter a taxa de CH₄GD do animal.

As repetibilidades mostradas na Tabela 2 sugerem que as medidas diárias de CH₄GD variam menos dentro de animal. Lassen et al. (2012), avaliando emissão de metano entérico em vacas holandesas, afirmam ser aceitável repetibilidade de 37%. Já Pinares-Patiño et al. (2011) consideram 16% de repetibilidade para classificar os animais conforme a sua emissão. Portanto, os valores apresentados de repetibilidade validam a técnica, sendo que a utilização do cilindro resultou em maior repetição comparado com a utilização da canga.

Os valores das variâncias e correlações estimados entre os dias de coleta para a característica CH₄GD, separadamente para cada recipiente coletor utilizando a técnica do gás traçador SF₆, são apresentados na Tabela 3.

Tabela 2. Média de emissão de metano entérico (CH_4GD), variâncias entre e dentro de animal e repetibilidade considerando 5 dias de coleta utilizando cangas de PVC e cilindros de Inox na técnica do gás traçador SF_6

Parâmetros	5 dias de Coleta	
	Cangas de PVC (n = 291)	Cilindros de Inox (n = 566)
CH_4GD , g/dia	120,5	184,1
Variância entre animal, g/dia ²	128,1	694,3
Variância dentro de animal, g/dia ²	353,1	602,7
Repetibilidade, %	26,61	53,53

Tabela 3. Variâncias residuais e variâncias relativas, e correlações de Spearman e Pearson para emissão de metano entérico (CH_4GD) e dias de mensuração pela técnica do gás traçador SF_6 estudadas em 97 animais utilizando cangas (PVC) e 192 animais utilizando cilindros (Inox)

Característica	Recipiente	Critério	Dias de coleta				
			1d	2d	3d	4d	5d
CH_4GD (g/dia)	Canga (PVC)	VRES	745,5	658,3	665,1	744,3	816,4
		VREL	-	11,7	-0,91	-10,6	-9,67
		SPE	0,87	0,93	0,97	0,99	1,00
		PEA	0,87	0,94	0,96	0,98	1,00
	Cilindro (Inox)	VRES	2155	1927	1765	1633	1591
		VREL	-	10,6	7,52	6,13	1,95
		SPE	0,86	0,94	0,97	0,99	1,00
		PEA	0,85	0,94	0,97	0,99	1,00

CH_4GD = emissão de metano entérico. VRES = variância residual, VREL = variância relativa, SPE = correlação de Spearman entre cada dia de coleta e 5 dias, PEA = correlação de Pearson entre cada dia de coleta e 5 dias.

A variância residual da emissão de metano entérico foi maior com a utilização de cilindro inox em comparação a canga, porém as variâncias relativas foram diminuindo com o aumento dos dias de coleta, o que é desejável. Já as correlações estimadas entre os dias de coleta 1, 2, 3 e 4 com 5 dias foram aumentando ao longo do período avaliado em ambos recipientes, cangas e cilindros. Assim como no estudo de Ahlberg et al. (2018) se considerarmos correlações iguais ou acima de 0,95 para definir os dias mínimos de coleta da emissão de metano entérico, os resultados indicam que tanto para cangas quanto para cilindros devem ser considerados mínimo de 3 dias de coleta, assim como recomendação de Johnson et al. (2007). Porém é necessário avaliar em conjunto outras características relacionadas à técnica.



4. CONCLUSÃO

Levando em consideração apenas os valores médios da taxa de emissão de metano e as correlações de cada dia de coleta, pode-se sugerir um mínimo de 3 dias de coleta. Entretanto, a combinação da baixa repetibilidade com baixa variância para a canga, e da média repetibilidade com alta variância para o cilindro, reforça a importância de 5 dias de coleta de metano entérico utilizando a técnica do gás traçador SF₆. Mais estudos são necessários para melhor observação de diferenças entre os recipientes coletores e também para definição do mínimo de dias de coleta pela técnica do gás traçador SF₆.

5. AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Zootecnia, Centro Avançado de Pesquisa de Bovinos de Corte, Sertãozinho-SP, pela oportunidade de estágio, e ao CNPq pela bolsa concedida. Também gostaria de agradecer a minha orientadora Maria Eugênia Zerlotti Mercadante por todo auxílio durante a pesquisa e ao meu co-orientador Leandro Sannomiya Sakamoto por todos os conselhos e ajuda para a conclusão desse trabalho.

6. REFERÊNCIAS

Ahlberg, C.M.; Allwardt, K.; Broocks, A.; Bruno, K.; McPhillips, L.; Taylor, A.; Krehbiel, C.R.; Calvo-Lorenzo, M.; Richards, C.J.; Place, S.E.; DeSilva, U.; VanOverbeke, D.L.; Mateescu, R.G.; Kuehn, L.A.; Weaver, R.L.; Bormann, J.M.; Rolf, M.M. Test duration for water intake, average daily gain, and dry matter intake in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.96, p.3043–3054, 2018.

Berndt, A.; Boland, T.M.; Deighton, M.H.; Gere, J.I.; Grainger, C.; Hegarty, R.S.; Iwaasa, A. D.; Koolgaard, J.P.; Lassey, K.R.; Luo, D.; Martin, R.J.; Martin, C.; Moate, P.J.; Molano, G.; Pinares-Patiño, C.; Ribaux, B.E.; Swainson, N.M.; Waghorn, G.C.; Williams, S.R.O. Guidelines for use of sulphur hexafluoride (SF₆) tracer technique to measure enteric methane emissions from ruminants. M. G. Lambert, ed. **New Zealand Agricultural Greenhouse Gas Research Centre**, New Zealand, 2014, 166 pages.

Deighton, H.M.; Williams, O.R.; Hannah, C.M.; Eckard, J.R.; Boland, M.T.; Wales, J.W.; Moate, J.P. A modified sulphur hexafluoride tracer technique enables accurate determination of enteric methane emissions from ruminants. **Animal Feed Science and Technology**, v.197, p.47–63, 2014.

Donoghue, K.A.; Bird-Gardiner, T.; Arthur, P.F.; Hegarty, R.F. Genetic and phenotypic variance and covariance components for methane emission and postweaning traits in Angus cattle. **Journal of Animal Science**, v.94, p.1438-1445, 2016.

FAO. 2011. World Livestock 2011 – **Livestock in food security**. Rome, FA



Gerber, P.J.; Steinfeld, H.; Henderson, B.; Mottet, A.; Opio, C.; Dijkman, J.; Falcucci, A.; Tempio, G. Tackling climate change through livestock – A global assessment of emissions and mitigation opportunities. **Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)**. Rome. 2013.

Hayes, B.J; Donoghue, K.A; Reich, M.C; Mason, A.B; Bird-Gardiner, T; Herd, M.R; Arthur, P.F. Genomic heritabilities and genomic estimated breeding values for methane traits in Angus cattle. **Journal of Animal Science**, v.94, p. 902–908, 2016.

Hristov, A.N.; Oh, J.; Giallongo, F.; Frederick, T.; Weeks, H.; Zimmerman, P.R.; Harper, M.T.; Hristova, R.A.; Zimmerman, R.S.; Branco, A.F. The Use of an automated system (GreenFeed) to monitor enteric methane and carbon dioxide emissions from ruminant animals. **Journal of Visualized Experiments**. (103), e52904, doi:10.3791/52904, 2015.

Johnson, K; Huyler, M; Westberg, H.H.; Lamb, B; Zimmerman, P. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a SF₆ tracer technique. **Environmental Science & Technology**, v.28, p.359–362, 1994.

Johnson, K.A., Westberg, H.H., Michal, J.J.; Cossalman, M.W. The SF₆ tracer technique: methane measurement from ruminants. In: **Measuring methane production from ruminants**. (Eds HPS Makkar, PE Vercoe), p.33–67, 2007.

Lassen, J; Løvendahl, P. Heritability estimates for enteric methane emissions from Holstein cattle measured using noninvasive methods. **Journal of Dairy Science**, v.99, p.1959–1967, 2016.

Lassen, J; Løvendahl, P; Madsen, J. Accuracy of noninvasive breath methane measurements using Fourier transform infrared methods on individual cows. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.890–898, 2012.

Manzanilla-Pech, C.I.V; De Haas, Y; Hayes, J.B; Veerkamp, F.R; Khansefid, M; Donoghue, K.A; Arthur, P.F; Pryce, J.E. Genomewide association study of methane emissions in Angus beef cattle with validation in dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v.94, p.4151-4166, 2016.

Marzocchi, M.Z.; Sakamoto, L.S.; Canesin, R.C.; Cyrillo, J.N.S.G.; Mercadante, M.E.Z. Evaluation of test duration for feed efficiency in growing beef cattle. **Tropical Animal Health and Production**, v.52, p.1533–1539, 2020.

Primavesi, O; Frighetto, R.T.S; Pedreira, M.S; Lima, M.A; Berchielli, T.T; Demarchi, J.J.A.A; Manella, M.Q; Barbosa, P.F; Johnson, K.A; Westberg, H.H. Técnica do gás traçador SF₆ para medição de campo do metano ruminal em bovinos: adaptações para o Brasil. 1a ed., São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2004.

Pinares-Patiño, C.S; Clark, H. Reliability of the sulfur hexafluoride tracer technique for methane emission measurement from individual animals: an overview. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.48, p.223–229, 2008.

Pinares-Patiño, C.S; McEwan, J.C; Dodds, K.G; Cárdenas, E.A; Hegarty, R.S; Koolgaard, J.P; Clark, H. Repeatability of methane emissions from sheep. **Animal Feed Science and Technology**, v.166–167, p.210–218, 2011.

Storm, I.M.L; Hellwing, A.L.F; Nielsen, N.I; Madsen, J. Methods for measuring and estimating methane emission from ruminants. **Animals**, v.2, p.160-183, 2012.

Zimmerman, P.R. System for measuring metabolic gas emissions from animals. In: **U.S. Patent and Trademark Office** (Ed.), United States, Pat. No. 5, 265, 618, p.11, 1993.