



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO  
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS  
Y RECURSOS NATURALES

“Efecto de la calidad de la dieta y el nivel de la fibra en la cinética de  
digestión y la producción de metano en bovino lechero”

# TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

**PRESENTA:**

**MOHAMMED BENAOUA**

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México. Febrero 2018



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO  
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS  
Y RECURSOS NATURALES

“Efecto de la calidad de la dieta y el nivel de la fibra en la cinética de  
digestión y la producción de metano en bovino lechero”

# TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

PRESENTA:

**MOHAMMED BENAOUA**

## COMITÉ DE TUTORES

**Dr. OCTAVIO ALONSO CASTELÁN ORTEGA. Tutor Académico**

**Dr. MANUEL GONZÁLEZ RONQUILLO. Tutor Adjunto**

**Dra. JULIETA G. ESTRADA FLORES. Tutora Adjunta**

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México. Febrero 2018

## ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁGINA
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	I
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	II
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	III
<b>RESÚMEN</b>	IV
<b>ABSTRACT</b>	V
<b>I. INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	1
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	3
<b>II. JUSTIFICACIÓN</b> .....	10
<b>III. HIPÓTESIS</b> .....	11
<b>IV. OBJETIVOS</b> .....	12
<b>V. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	13
<b>VI. RESULTADOS</b> .....	16
7.1. PRIMER CAPÍTULO: ESTADO DE LA INVESTIGACIÓN SOBRE EMISIONES DE METANO ENTÉRICO Y ESTRATEGIAS DE MITIGACIÓN EN AMÉRICA LATINA.....	17
Resumen.....	18
Introducción.....	19
Avances en medición de misiones de metano a partir de la fermentación entérica de los rumiantes en América latina y el Caribe.....	20
Avances en la mitigación de emisiones de metano a partir de la fermentación entérica.....	24
Conclusiones.....	26
Literatura citada.....	26
7.2. SEGUNDO CAPÍTULO: DEVELOPMENT OF MATHEMATICAL MODELS TO PREDICT ENTERIC METHANE EMISSION BY CATTLE IN LATIN AMERICA.....	29
Abstract.....	31
Introduction.....	32
Materials and methods.....	34
Results and discussion.....	40
Conclusions.....	48
Literature cited.....	48
7.3. TERCER CAPÍTULO: EFECTO DE LA FIBRA DETERGENTE NEUTRO EN LA EMISIÓN DE METANO, DIGESTIBILIDAD Y PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LA LECHE.....	69
Resumen.....	70
Introducción.....	72
Materiales y Métodos.....	74
Resultados y Discusión.....	80
Conclusión.....	89
<b>VII. CONCLUSIÓN GENERAL</b> .....	92
Bibliografía.....	93

## **AGRADECIMIENTOS**

“Esta tesis corresponde a los estudios realizados con una beca de excelencia otorgada por el Gobierno de México, a través de la Secretaría de Relaciones Exteriores.” Por lo tanto, Se agradece a la Secretaría de Relaciones Exteriores de México por la beca otorgada para llevar a cabo mis estudios de doctorado. De igual forma, se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento otorgado para llevar a cabo los experimentos que se describe en esta tesis, a través del proyecto de investigación: Medición de la emisión de metano, como gas de efecto invernadero, a partir de la fermentación entérica en el ganado en México y desarrollo de estrategias de mitigación, clave CONACYT 223418.

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	
Esquema del sistema de medición de metano en vacuno: cámara de respiración de circuito abierto, tipo headbox.....	15
<b>RESULTADOS</b>	
<b>Primer capítulo</b>	
Emisiones totales de gases de efecto invernadero en América Latina y el Caribe, África, Asia, Europa y Norte América de 1995-2011 (Mt CO <sub>2</sub> e= megatonnes de equivalente de CO <sub>2</sub> ).....	19
Contribución regional de las emisiones de metano en 2011.....	19
Emisiones totales de metano en relación con la emisión total de gases de efecto invernadero en los principales países de América Latina y el Caribe (CAIT, 2011). Mt CO <sub>2</sub> e = megatoneladas de CO <sub>2</sub> equivalente.....	20
<b>Segundo capítulo</b>	
Relationship between neutral detergent fiber (NDF) content in the diet and the percentage of lignin (LIG).....	64
Relationship between the percentage of NDF (a) and ADF (b) on the digestibility of the dry matter for all the diets included in the analysis.....	64
Observed versus predicted plot of simple regression models using the database in Table 1.....	65
Residual error versus predicted plots of simple regression models using the database in Table 1.....	66
Observed versus predicted plot of multiple regression models using the database in Table 1.....	67
Residual error versus predicted plots of multiple regression models using the database in Table 1.....	68
<b>Tercer capítulo</b>	
Relación entre el porcentaje del rastrojo en la dieta y la digestibilidad de la fibra detergente neutro (dFDN % = 48.2 – 1.6 x % de rastrojo; R <sup>2</sup> = 0.90) y la digestibilidad de la fibra detergente ácido (dFDN % = 48.2 – 4.45 x % de rastrojo; R <sup>2</sup> = 0.91).....	82
Correlación entre la producción de metano y el consumo y la digestibilidad de materia seca y de los nutrientes y el balance energético y proteico.....	90
Relación entre <i>Y<sub>m</sub></i> y la digestibilidad de: MS (a), Energía (b), FDN (c) y FDA (d) de las cuatro dietas experimentales (n = 32).....	91

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>RESULTADOS</b>	
<b>Segundo capítulo</b>	
A summary of data used for developing models.....	57
A summary of the independent data used for evaluating models.....	58
Pearson's correlation coefficients (r) between dietary and animal variables with methane production.....	59
Simple regression models developed to predict methane production by cattle in Latin America and some extant models.....	60
Evaluation of new simple regression models, and extant models using an independent data set.....	61
Multiple regression models developed to predict methane production by cattle in Latin America.....	62
Evaluation of multiple regression models developed in this study.....	63
<b>Tercer capítulo</b>	
Ingredientes y composición química de las cuatro dietas experimentales.....	75
Peso vivo (kg) y metabólico (kg) y el consumo de materia seca y de los nutrientes (kg/d) de las cuatro dietas experimentales.....	83
Producción y calidad de la leche en las cuatro dietas experimentales.....	84
Balance energético y proteico de las vacas consumiendo las cuatro dietas experimentales.....	86
Producción de metano por las vacas en las cuatros dietas experimentales.....	88

## RESUMEN

La presente investigación fue realizada en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Autónoma del Estado de México y trata el tema de la producción de metano entérico y su relación con la calidad de la dieta, específicamente el impacto del contenido y la calidad de la fibra sobre la emisión de metano. La primera parte de este documento se enfoca en dar a conocer el panorama general de los avances realizados en la región de América Latina tanto en determinación de los factores de emisión del gas metano como en el desarrollo de estrategias de mitigación. A escala mundial, la región latinoamericana contribuye con el 14% de las emisiones de metano, siendo Brasil y México los mayores contribuyentes. Los trabajos de estrategias de mitigación se han enfocado en el uso de plantas taníferas y aceites esenciales. A partir de los trabajos encontrados en la primera parte, se construyó una base de datos que fue utilizada para estudiar la variabilidad de la producción de metano por el ganado bovino en la región latinoamericana que varía entre 50 y 400 g/animal/día con un promedio de alrededor de 200 g. La base de datos compilada fue utilizada para desarrollar después ecuaciones de predicción de la emisión de metano. Se obtuvo una buena predicción de dicha emisión usando variables de consumo (consumo de materia seca y consumo de energía bruta), no obstante, la predicción mejora significativamente, al incluir en la ecuación la digestibilidad y el contenido en fibra. Al final, se estudió, experimentalmente, el efecto de la fibra y su digestibilidad sobre la emisión de metano por el ganado lechero. Para ello, se evaluaron cuatro dietas con niveles crecientes de fibra. A pesar de que el aumento de fibra no afectó el consumo ni la producción diaria de metano, el rendimiento de metano (l/kgMSI) disminuyó linealmente conforme incrementa el contenido de fibra en la dieta. De esta manera, se concluyó que América Latina, incluyendo México, ha empezado recientemente la labor de cuantificar el impacto medio ambiental de sus sistemas ganaderos en términos de contaminación con el gas metano, a pesar de que en esta zona existe un gran rebaño bovino. El consumo de alimento es el factor más importante para estimar la emisión de metano, sin embargo, la calidad de la fibra aportada por los forrajes es un factor clave para entender el comportamiento de la emisión de metano por el ganado bovino en México.

## ABSTRACT

The present research was carried out in the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics, of the Autonomous University of Mexico State and deals with the issue of enteric methane production and its relationship with the quality of the diet, specifically the impact of content and quality of fiber on methane emission. The first part of this document focuses on making a general panorama of the progress made in the Latin American in determining the emission factors of methane gas as well as in the development of mitigation strategies. On a global scale, Latin American contributes almost 14% of methane emissions, with Brazil and Mexico being the largest contributors. The mitigation strategies has focused on the use of tanniferous plants and essential oils. From the publications found in the first part, a database was constructed to study the variability of methane production by cattle in that region. Methane emission varies between 50 and 400 g/animal/day with an average of about 200 g. The compiled database was used to develop prediction equations for methane emission. A good prediction of this emission was obtained using intake variables (dry matter intake and gross energy intake), however, the prediction improves significantly if digestibility and fiber content were included in the model. Finally, the effect of fiber and its digestibility on methane emission by dairy cattle was studied experimentally. Four diets with increasing levels of dietary fiber were evaluated. The increasing level of fiber did not affect the diet intake or daily production of methane, however, the methane yield (l/kgMSI) decreased linearly as the fiber content increased. In this way, it was concluded that Latin America, including Mexico, has recently begun to quantify the environmental impact of its livestock systems in terms of methane gas pollution, despite the fact that a large herd of cattle exists in this area. Food intake is the most important factor to estimate methane emission, however, the quality of the fiber provided by forages is a key factor to understand the behavior of methane emission by cattle in Mexico.



## I- INTRODUCCIÓN GENERAL

El presente trabajo de investigación se refiere al tema de la emisión de metano entérico por el ganado bovino, con un enfoque en el efecto de la calidad de la dieta sobre la cantidad del gas metano producida. El primer capítulo es una revisión de literatura que trata de dibujar un panorama general de los avances científicos en cuanto a la cuantificación del gas metano entérico emitido por los rumiantes en toda América Latina. Las estrategias de mitigación probadas en dicha región es otro aspecto abordado en el primer capítulo, que incluye desde los estudios *in vitro* hasta las pruebas *in vivo*. Este capítulo ha sido publicado en la Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas y se presenta en esta tesis en el formato original del artículo publicado

La tesis también consta de un segundo capítulo, que viene a dar un análisis cuantitativo a los datos reportados, narrativamente, en la primera parte. El objetivo principal planteado en el segundo capítulo es explicar la emisión de metano en América Latina con factores asociados con el animal y su dieta, y mediante la aproximación meta-analítica, desarrollar ecuaciones matemáticas que estiman la cantidad de gas metano producido por los bovinos. El segundo capítulo está presentado en el formato de la revista Journal of Animal Science y incluye detalles sobre: la extracción de los datos de las publicaciones, la construcción de la base de datos, la elaboración de los modelos y la validación de los mismos.

El tercer capítulo del presente documento consiste en un trabajo experimental con el propósito de evaluar el efecto del incremento de la fibra en la dieta de vacas lecheras sobre la producción de metano, el consumo, la digestibilidad, la producción de leche y su calidad. El planteamiento de este estudio se fundamenta en una interrogante que se forma durante

el segundo capítulo. En breve, la cantidad de la fibra en la dieta (comúnmente reportada en forma de Fibra Detergente Neutro) es un indicador muy importante de la cantidad de metano emitida, de modo que a mayor fibra en la dieta mayor producción de metano. Sin embargo, en América Latina, y en muchos sistemas de producción en México, la alimentación del ganado se basa en forrajes con alto contenido en fibra y generalmente de baja calidad. La pregunta planteada, entonces, es cómo se comporta la producción de metano por las vacas de leche al recibir crecientes niveles de fibra en la dieta.

Finalmente, la tesis se cierra con una serie de conclusiones generales de los tres capítulos.

## II- REVISIÓN DE LITERATURA

### **La fibra y la producción de metano**

#### **Definición de la fibra dietética**

La fibra dietética es un complejo compuesto de polímeros de carbohidratos (Celulosa, hemicelulosa) que generalmente se encuentra asociado con otros compuestos como proteína, lignina y ácidos grasos (McDougall *et al.*, 1996). El primer científico que introdujo el concepto de la fibra dietética fue Hipsley (1953) y la definió como la parte no digestible de la planta que, después se descubrió, que constituye su pared celular. En los 70s (Trowel, 1976) la fibra dietética tomó una definición más avanzada ya que, en comparación con la digestión humana, la fibra en una dieta representa los restos esqueléticos de las células de la planta que son resistentes a la hidrólisis por las enzimas del tracto digestivo del hombre. A fines prácticos, se han definido la Fibra bruta (FB), Fibra Detergente Neutro (FDN) y la Fibra Detergente Ácido (FDA) y se utilizan para predecir la calidad de los forrajes (digestibilidad y valor energético) y la capacidad de la ingestión de los mismos.

#### **La fibra en la alimentación de los rumiantes**

En nutrición de los rumiantes, la fibra es considerada como la porción del alimento digerida principalmente en el rumen, gracias a la existencia de una microflora capaz de degradar los enlaces entre los diferentes componentes de la fibra (White *et al.*, 2017). Por lo cual, los forrajes constituyen el componente fundamental de las raciones en la mayoría de los sistemas de producción de los rumiantes (con la excepción del sistema intensivo de

engorda). Sin embargo, a pesar de la ayuda de la microflora ruminal, la fibra sigue siendo la fracción menos digestible de la dieta, pues requiere ser masticada para reducir su tamaño de partícula (Grant, 1991). Por esta razón, los sistemas de alimentación de los rumiantes han ido disminuyendo progresivamente la proporción de fibra en las raciones con el fin de maximizar el aporte energético al animal (Bach y Calsamiglia, 2006). No obstante, la falta de la fibra puede ser más peligrosa que su exceso, ya que la falta de esta puede producir acidosis, depresión de la grasa en la leche, desplazamiento de abomaso...etc., por lo tanto los modelos de alimentación recomiendan un mínimo de fibra para asegurar el buen funcionamiento del rumen: Por ejemplo, el mínimo de FDN en la dieta de vacuno lechero es 29% en promedio según establece el NRC (2001).

En el NRC, las recomendaciones de inclusión de fibra en la dieta de vacuno lechero introdujeron una diferenciación química (contenido fibroso en la dieta) y otra física (porcentaje de fibra procedente del forraje) en un intento de contemplar las acciones de la fibra en el rumiantes: de un lado la fibra es de fermentación lenta y por lo tanto su aporte energético al animal es limitado y de otro lado la fibra por sus características físicas estimula la rumia, la salivación y regula la tasa de pasaje en el rumen.

### **La fibra, la tasa de pasaje y la producción de metano**

La fermentación ruminal del alimento es un proceso complejo que involucra una alta actividad microbiana y degradación de componentes de la dieta. La fermentación de la fibra en el rumen consiste en reducir los carbohidratos complejos de la pared celular (Celulosa y hemicelulosa, principalmente) a hexosas (por ejemplo glucosa), que a su vez se degrada y da lugar a Ácidos Grasos Volátiles (AGVs). Los AGVs son una importante fuente de energía metabolizable para los rumiantes (Bergman, 1990), siendo entre 40 y 70% de la

energía digestible ingerida (France y Dijkstra, 2005). Los mayores AGVs producidos en el rumen son el acetato, propionato y el butirato que representan más del 95% del total de los AGVs (Bannink *et al.*, 2006). Sin embargo, este proceso de aprovechar la fibra dietética en energía para el rumiante tiene cierta deficiencia ya que en la ruta bioquímica de conversión de carbohidratos estructurales a AGVs se liberan iones de hidrógeno ( $H^+$ ) que a su vez se transforma en gas  $H_2$ . Éste es aprovechado por las bacterias metanogénicas como una fuente de energía en una reacción que involucra dióxido de carbono ( $CO_2$ ) formando al final el gas metano ( $CH_4$ ; Moss *et al.*, 2000). En otras palabras, la formación de  $CH_4$  actúa como el sumidero de electrones más importante en el que drena el  $H_2$  producido por los microorganismos ruminales (McAllister y Newbold, 2008). De otro lado, la producción de  $CH_4$  en el rumen está estrechamente relacionada con la producción de AGVs, lo cual determina el exceso de  $H_2$ : la producción de los ácidos acético y butírico resultan en la liberación de  $H_2$  y  $CO_2$  mientras que la formación del ácido propiónico involucra la captación de  $H_2$  (Benchaar *et al.*, 2001).

Está bien establecido que el consumo de alimento es el mejor factor que explica la producción de  $CH_4$  en vacunos (Yan *et al.*, 2010; Ramin y Huhtanen, 2013), en ovino (Hammond *et al.*, 2013; Ramin y Huhtanen, 2013; Patra *et al.*, 2016), en caprino (Patra y Lalhriatpuii, 2016) y hasta en búfalos (Patra, 2014), de modo que la producción diaria de  $CH_4$  (en l/día o g/día) incrementa con el incremento del consumo de materia seca (CMS). Además, está reconocido que los factores animales como la masticación, la salivación y la cinética de la digesta afectan la tasa y el tipo de fermentación a nivel del rumen. Pinares-Patiño *et al.* (2003) concluyeron que el aumento de la producción de  $CH_4$  en animales de mayor consumo está asociado con un mayor tiempo de retención del alimento en el rumen

(menor tasa de pasaje de partículas), que también se ve reflejado en una mejor digestibilidad de la fibra. En contraste, existe una hipótesis (Janssen, 2010) que sugiere que la metano-génesis está regulada por el flujo de la fase líquida del rumen. De acuerdo con los principios de termodinámica, la población de las bacterias metanogénicas (arqueas) se reduce con el aumento de la tasa de pasaje del alimento a través del rumen. En consecuencia, se acumula el gas  $H_2$  y se reduce la formación de  $CH_4$ . La acumulación de  $H_2$  en el rumen ejerce también un efecto inhibitorio sobre la degradación microbiana del material vegetal (McAllister and Newbold, 2008). En conclusión, la fibra de la dieta (contenido y calidad) es un factor clave en la explicación de la formación de metano en el rumen ya que condiciona, de manera compleja, la producción de AGVs, el llenado del rumen y la tasa de pasaje del alimento.

## **El uso de meta-análisis en la investigación en producción animal**

La investigación científica en producción animal ha evolucionado en las últimas décadas, particularmente, el número de las publicaciones ha incrementado notablemente y cada estudio contiene un elevado número de mediciones cuantitativas. Esto tiene como fin proporcionar resultados de calidad que pueden ser aplicados para mejorar la respuesta productiva, el bienestar de los animales y reducir el impacto medio ambiental de la ganadería. De otro lado, es frecuente y de gran interés de los científicos de esta área, resumir conocimientos anteriores en forma de revisiones de literatura. No obstante, la aproximación clásica suele ser narrativa, donde el revisor usa integración mental para combinar hallazgos de una colección de estudios y los resultados son entonces descritos de forma cualitativa. El proceso de comparación, por lo tanto, involucra subjetividad del autor que evalúa los resultados de los diferentes estudios. Además de esto, los criterios de inclusión o no inclusión de los estudios en la revisión son generalmente no definidos. En consecuencia, diferentes autores pueden llegar a conclusiones drásticamente diferentes partiendo de la misma colección de estudios.

Frente a todas las limitaciones del método clásico, el meta-análisis que es una metodología basada en estadística, permite al revisor resumir y cuantificar conocimientos adquiridos en estudios anteriores. La aproximación meta-analítica en la revisión sistemática de literatura, ha crecido bastante en el área de producción animal en las últimas décadas, después de ser exclusiva a psicología, medicina y ciencias sociales (Mantel y Haenszel, 1959; Glass, 2012; St-Pierre, 2001; Sauvant *et al.*, 2008). Generalmente, los estudios de meta-análisis tienen

la estructura de un trabajo experimental donde el revisor plantea una hipótesis, aplica un diseño y un modelo estadístico para probar su hipótesis, recolecta datos, obtiene y discute los resultados.

## **Bibliografía**

Bach, A., and S. Calsamiglia. 2006. La Fibra En Los Rumiantes ¿ Química O Física? Fedna. 99–114.

Bannink, a., J. Kogut, J. Dijkstra, J. France, E. Kebreab, a. M. Van Vuuren, and S. Tamminga. 2006. Estimation of the stoichiometry of volatile fatty acid production in the rumen of lactating cows. *J. Theor. Biol.* 238:36–51. doi:10.1016/j.jtbi.2005.05.026.

Benchaar, C., C. Pomar, and J. Chiquette. 2001. Evaluation of dietary strategies to reduce methane production in ruminants: A modelling approach. *Can. J. Anim. Sci.* 81:563–574. doi:10.4141/A00-119.

Bergman, E. N. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.* 70:567–590. doi:10.1046/j.1461-0248.2001.00230.x.

Glass, G. V. 2012. Primary, secondary, and meta-analysis of research. *Am. Educ. Res. Assoc.* 5:3–8. doi:10.3102/0013189X005010003.

Grant, R. J. 1991. Evaluating the Feeding Value of Fibrous Feeds for Dairy Cattle Evaluating the Feeding Value of Fibrous Feeds for Dairy Cattle.

Hammond, K. J., J. L. Burke, J. P. Koolaard, S. Muetzel, C. S. Pinares-Patiño, and G. C. Waghorn. 2013. Effects of feed intake on enteric methane emissions from sheep fed fresh white clover (*Trifolium repens*) and perennial ryegrass (*Lolium perenne*) forages. *Anim. Feed Sci. Technol.* 179:121–132. doi:10.1016/j.anifeedsci.2012.11.004. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0377840112003884>

Hipsley, E. H. 1953. Dietary “fibre” and pregnancy toxæmia. *Br. Med. J.* 2:420–422. doi:10.1136/bmj.2.4833.420.

Janssen, P. H. 2010. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Anim. Feed Sci. Technol.* 160:1–22. doi:10.1016/j.anifeedsci.2010.07.002.

Mantel, N., and W. Haenszel. 1959. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies. *J. Natl. Cancer Inst.* 22:719–748. doi:10.1093/jnci/22.4.719.

McAllister, T. a., and C. J. Newbold. 2008. Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. *Aust. J. Exp. Agric.* 48:7–13. doi:10.1071/EA07218.

McDougall, G. J., I. M. Morrison, D. Stewart, and J. R. Hillman. 1996. Plant Cell Walls as Dietary Fibre: Range, Structure, Processing and Function. *J. Sci. Food Agric.* 70:133–150. doi:10.1002/(sici)1097-0010(199602)70:2<133::aid-jsfa495>3.0.co;2-4.

NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Available from:



<http://www.nap.edu/catalog/9825>

Ossa, A. R. M., J. J. Ouanyb, and J. N. Ewboldc. 2000. Review article Methane production by ruminants : its contribution to global warming. 49:231–253.

Patra, A. K. 2014. Prediction of enteric methane emission from buffaloes using statistical models. *Agric. Ecosyst. Environ.* 195:139–148. doi:10.1016/j.agee.2014.06.006. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167880914003260>

Patra, A. K., and M. Lalhriatpuii. 2016. Development of statistical models for prediction of enteric methane emission from goats using nutrient composition and intake variables. *Agric. Ecosyst. Environ.* 215:89–99. doi:10.1016/j.agee.2015.09.018.

Patra, a. K., M. Lalhriatpuii, and B. C. Debnath. 2016. Predicting enteric methane emission in sheep using linear and non-linear statistical models from dietary variables. *Anim. Prod. Sci.* 56:574–584. doi:10.1071/AN15505.

Pinares-Patiño, C. S., M. J. Ulyatt, K. R. Lassey, T. N. Barry, and C. W. Holmes. 2003. Rumen function and digestion parameters associated with differences between sheep in methane emissions when fed chaffed lucerne hay. *J. Agric. Sci.* 140:205–214. doi:10.1017/S0021859603003046.

Ramin, M., and P. Huhtanen. 2013. Development of equations for predicting methane emissions from ruminants. *J. Dairy Sci.* 96:2476–2493. doi:10.3168/jds.2012-6095. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213000945>

Sauvant, D., P. Schmidely, J. J. Daudin, and N. R. St-Pierre. 2008. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *Animal.* 2:1203–1214. doi:10.1017/S1751731108002280.

St-Pierre, N. R. 2001. Invited Review: Integrating Quantitative Findings from Multiple Studies Using Mixed Model Methodology. *J. Dairy Sci.* 84:741–755. doi:10.3168/jds.S0022-0302(01)74530-4. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030201745304>

Trowel, H. 1976. in nutrition Definition is a protective of dietary factor fiber and hypotheses diseases ' that it in certain. *Am. J. Clin. Nutr.* 29:417–427.

White, R. R., M. B. Hall, J. L. Firkins, and P. J. Kononoff. 2017. Physically adjusted neutral detergent fiber system for lactating dairy cow rations. I: Deriving equations that identify factors that influence effectiveness of fiber. *J. Dairy Sci.* 100:9551–9568. doi:10.3168/jds.2017-12765.

Yan, T., C. S. Mayne, F. G. Gordon, M. G. Porter, R. E. Agnew, D. C. Patterson, C. P. Ferris, and D. J. Kilpatrick. 2010. Mitigation of enteric methane emissions through improving efficiency of energy utilization and productivity in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:2630–8. doi:10.3168/jds.2009-2929. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20494172>

### **III- JUSTIFICACIÓN**

El presente trabajo de investigación se enfocó en el estudio de la variabilidad en la emisión de metano entérico por el ganado bovino y explicar dicha variabilidad mediante factores relacionados con el animal y su dieta. Así, en el presente trabajo se aplicó el método estadístico de meta-análisis para desarrollar ecuaciones matemáticas específicos de la región de América Latina y adaptadas a sus condiciones de sistemas de producción. Estas ecuaciones permitirán estimar la producción de metano sin necesidad de recurrir a metodologías de medición onerosos o utilizar modelos de predicción de otros de países. Los modelos desarrollados podrían ser muy útiles para la elaboración de inventarios de la emisión de gas metano en la región. Finalmente, el estudio experimental desarrollado busca establecer el impacto de la alimentación con forrajes fibrosos, típica del sistema de producción del ganado en México, sobre la emisión de metano. Dicha información inexistente hasta la actualidad, es de alta necesidad con el fin de comprender y cuantificar el impacto medio ambiental de los sistemas de producción del ganado en México.

#### **IV- HIPÓTESIS**

El contenido en fibra y su calidad explica mejor la variabilidad en la emisión de metano entérico por el ganado lechero en México, lo cual, hace de la fibra un factor muy importante en el proceso de la determinación de los factores de emisión de metano para México.

## V- OBJETIVOS

### **Objetivo principal**

Evaluar el efecto del contenido en fibra en la dieta sobre la producción de metano entérico por el ganado bovino productor de leche.

### **Objetivo secundarios**

Realizar una revisión sistemática de la literatura de los avances de determinación de factores de emisión de metanos en América Latina.

Aplicar modelos estadísticos sobre los datos recopilados en la revisión de literatura, para explicar y cuantificar la variabilidad en la producción de metano asociada a variables relacionadas con el animal, el contenido de fibra y otras variables de la composición química de la dieta con el fin de predecir la emisión de metano a partir de variables fácilmente determinables en el laboratorio.

Estudiar el efecto de niveles creciente de fibra dietética sobre la digestibilidad, el uso de energía y nitrógeno de la dieta, y la producción y la calidad de la leche de vacas lecheras..

Comparar la digestibilidad, el contenido en fibra y la digestibilidad de la fibra como variables explicativas a la producción de metano.

## VI- MATERIALES Y MÉTODOS

La revisión de literatura que conforma el primer capítulo fue basada principalmente en el material presentado en la Primera Conferencia de Gases de Efecto Invernadero en sistemas Agropecuarios: Taller sobre medición de gases de efecto invernadero en sistemas ganaderos” en INIA Remehue, Chile, entre el 1° y el 3 de Octubre 2014. Además, la información encontrada en el libro de actas del taller permitió profundizar más la revisión realizada en una amplia búsqueda en motores como ScienceDirect, Scopus, Redalyc, Springer y GoogleScholar.

La información recopilada en la revisión de la literatura durante el primer capítulo, sirvió de fuente para construir una base de datos cuantitativos relacionados con la dieta, el animal y la producción de metano. La búsqueda sistemática, la inclusión o no de los estudios, la extracción de los datos y el tratamiento de los datos faltantes se explica con más detalle en el segundo capítulo de este documento. La base de datos construida fue analizada usando un modelo estadístico de efectos mixtos, fijos y aleatorios como describe St-Pierre en el 2001 (bibliografía enlistada en el segundo capítulo). La expresión estadística del modelo es:

$$Y_{ij} = B_0 + b_{0i} + B_1 X_{1ij} + b_{1i} X_{1ij} + B_2 X_{2ij} + \dots + B_p X_{pij} + e_{ij}$$

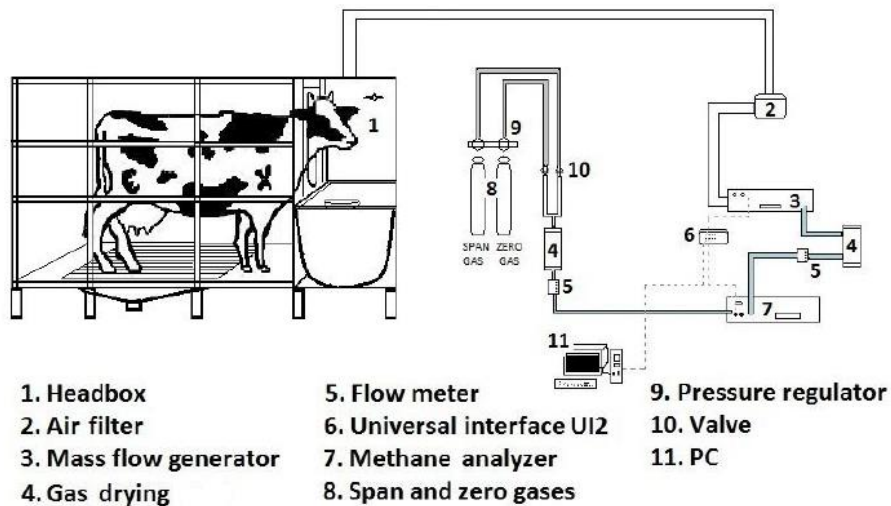
Donde  $Y_{ij}$  es la variable respuesta ( $CH_4$  en g/d/cabeza) en el tratamiento  $i$  de estudio  $j$ ,  $B_0$  es el intercepto,  $b_{0i}$  es el efecto aleatorio del estudio  $i$  en el intercepto, del  $X_{1ij}$  al  $X_{pi}$  son valores del factor predictor del tratamiento  $I$  del estudio  $j$  (número de los factores predictores =  $p$ ),  $B_1$  a  $B_p$  es el efecto fijo de la regresión y  $e_{ij}$  es el error aleatorio. El análisis

fue realizado mediante el paquete estadístico SAS (PROC MIXED). Los modelos elaborados fueron después validados mediante una base de datos independiente.

El tercer capítulo resume un trabajo experimental realizado en el Laboratorio de Ganadería, Medio Ambiente y Energías Renovables de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, entre junio y agosto del 2016. El estudio consistía en evaluar el efecto de niveles crecientes en la cantidad de la fibra en la dieta de vacas lecheras de raza Holstein en su consumo, digestibilidad de la dieta, utilización de energía y proteína, producción de metano y producción de leche así como su calidad. Para obtener el consumo individual, las vacas fueron alojadas individualmente en los parideros de la Unidad de Producción donde las vacas tenían acceso libre a alimento y agua. Para la medición de la emisión de metano, se utilizó una cámara de respiración de circuito abierto tipo head-box (Figura 1).

La cabeza del animal se mantiene dentro de la caja de acrílico (headbox) mediante una capucha de plástico alrededor del cuello del animal, de forma que la caja esté sellada. El gas que exhala y eructa el animal es recuperado mediante una bomba de vacío que succiona el aire a una potencia del 500 l/min. Antes de llegar a la bomba, el aire succionado es filtrado por su contenido en polvo y partículas de alimento, utilizando un filtro de aire como muestra la figura 1. De los 500 l/min se toma una submuestra equivalente a 0.5 l/min cada segundo para analizar la cantidad de metano. La submuestra atraviesa un filtro de humedad antes de llegar al analizador de metano. En la entrada del analizador hay un flujo metro, que se utiliza para configurar el flujo de la submuestra entrante a 0.4 l/min. El analizador de metano funciona con la tecnología de infrarrojo cercano que da lecturas de porcentaje de metano cada segundo. La bomba de succión y el analizador están conectados a una

interface (UI2) encargada de recolectar los datos de flujo de succión y porcentaje de metano, respectivamente. El UI2 a su vez está conectado a una computadora se almacenan los datos obtenidos.



**Figura 1: Esquema del sistema de medición de metano en vacuno: cámara de respiración de circuito abierto, headbox, (Pedraza-Beltrán *et al.* 2016)**

El analizador de metano requiere de calibración antes de cada uso mediante dos tipos de gases: Un gas libre de metano (nitrógeno puro) para calibrar el punto “cero” y una mezcla de gas que contiene metano a una concentración conocida (0.099 %). La calibración en el estudio resumido en el tercer capítulo se realizó cada 12 horas durante la fase de medición.

## **VII- RESULTADOS**



## **7.1. PRIMER CAPÍTULO**

## Estado de la investigación sobre emisiones de metano entérico y estrategias de mitigación en América Latina\*

### Status of research on enteric methane emissions and mitigation strategies in Latin America

Mohammed Benaouda<sup>1</sup>, Manuel González Ronquillo<sup>1</sup>, Luisa T. Molina<sup>2</sup> y Octavio Alonso Castelán Ortega<sup>1§</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Veterinaria y Zootecnia-Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto Literario Núm. 100. Colonia Centro, Toluca, México. CP. 50000, <sup>2</sup>Molina Center for Energy and the Environment. 3252 Holiday Ct, Suite 223. La Jolla, United States of America. CA. 92037. <sup>§</sup>Autor para correspondencia: oaco2002@yahoo.com.mx.

#### Resumen

La medición de la emisión de gases de efecto invernadero es altamente relevante en la evaluación del impacto ambiental de los sistemas agropecuarios. El metano producido por la fermentación entérica de los rumiantes representa una parte importante de todas las emisiones antropogénicas de gases de efecto invernadero en América Latina, donde hay una gran producción de rumiantes. Actualmente, los esfuerzos de los países latinoamericanos están enfocados más en la cuantificación de las emisiones de metano y el cálculo de los inventarios nacionales que en la mitigación. En este ensayo se exponen los datos obtenidos hasta ahora en diferentes experimentos, en términos de determinación *in vivo* de las emisiones de metano en los países de América Latina. Esto, con la intención de discutir y dar a conocer el panorama actual y los avances de la zona en cuanto a la medición del impacto ambiental de este gas y el desarrollo de estrategias para reducir su producción por los rumiantes. Finalmente se marcan los retos que se enfrenta en el futuro la investigación sobre el tema.

**Palabras clave:** América Latina, gases de efecto invernadero, metano entérico, rumiantes.

#### Abstract

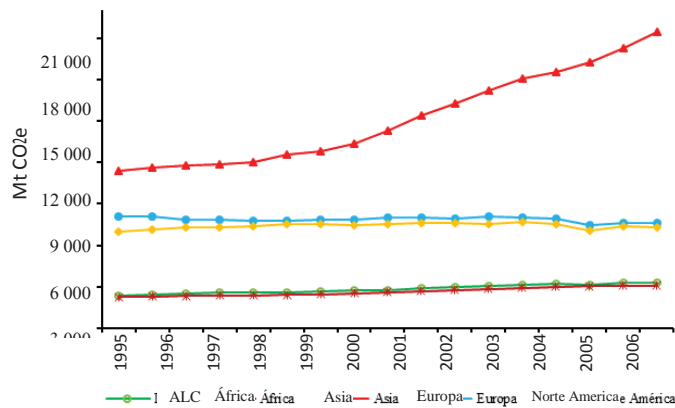
Measurement of greenhouse gas emissions is highly relevant in assessing the environmental impact of agricultural systems. Methane produced by enteric fermentation of ruminants represents an important part of all anthropogenic emissions of greenhouse gases in Latin America, where there is a large production of ruminants. Currently, the efforts of Latin American countries are focused more on the quantification of methane emissions and the calculation of national inventories than on mitigation. In this paper the data obtained so far in different experiments, in terms of *in vivo* determination of methane emissions in the countries of Latin America are exposed. This, with the intention of discussing and making known the current panorama and the zone progress in terms of measurement of the environmental impact of this gas and the development of strategies to reduce its production by ruminants. Finally the challenges that are faced in the future in the investigation on the subject are marked.

**Keywords:** enteric methane, greenhouse gases, Latin America, ruminants.

\* Recibido: marzo de 2017 Aceptado: junio de 2017

## Introducción

La agricultura aporta alrededor de 13% de la emisión total de gases de efecto invernadero (GEI) en el mundo, 50% del metano (CH<sub>4</sub>) y 60 a 80% del óxido nitroso (N<sub>2</sub>O) liberado (IPCC, 2014). Las emisiones de metano se originan principalmente de la fermentación entérica de los rumiantes y de los cultivos inundados de arroz. América Latina y el Caribe (ALC) contribuyen con menos del 9.1% de las emisiones antropogénicas globales total de gases de efecto invernadero, ocupando el cuarto lugar detrás de Asia, Europa y América del Norte, sucesivamente (Figura 1).



**Figura 1. Emisiones totales de gases de efecto invernadero en América Latina y el Caribe, África, Asia, Europa y Norte América de 1995-2011 (Mt CO<sub>2</sub>e= megatones de equivalente de CO<sub>2</sub>).** Fuente: Instituto de Recursos Mundiales (CAIT, 2011).

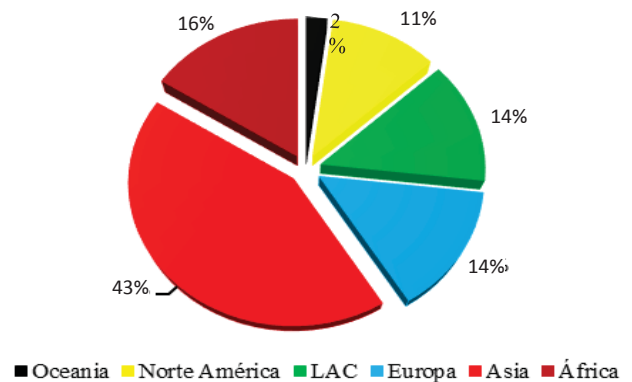
**Figure 1. Total emissions of greenhouse gases in Latin America and the Caribbean, Africa, Asia, Europe and North America of 1995-2011 (Mt CO<sub>2</sub>e= megatons of CO<sub>2</sub> equivalent).** Source: Institute of World Resources, (CAIT, 2011).

Del mismo modo, la Figura 2 muestra que la región de LAC produce 14% de las emisiones de CH<sub>4</sub> total mundial (World Resources Institute 2014). Brasil, México, Argentina y Colombia contribuyen con los volúmenes más grandes de GEI en la zona, 44.7%, 22.8, 13.7 y 7%, respectivamente. De igual manera, estos países contribuyen con grandes cantidades de metano a escala mundial (Figura 3), Brasil y México ocupan el quinto y el octavo lugar de los países más productores de metano en el mundo.

## Introduction

Agriculture contributes about 13% of the total emission of greenhouse gases (GHGs) in the world, 50% of methane (CH<sub>4</sub>) and 60 to 80% of nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) released (IPCC, 2014). Methane emissions originate mainly from the enteric fermentation of ruminants and flooded rice crops. Latin America and the Caribbean (LAC) contribute less than 9.1% of total global anthropogenic emissions of greenhouse gases, ranking fourth behind Asia, Europe and North America (Figure 1).

Similarly, Figure 2 shows that the LAC region produces 14% of CH<sub>4</sub> emissions worldwide total (World Resources Institute 2014). Brazil, Mexico, Argentina and Colombia contribute the largest GHG volumes in the area, 44.7%, 22.8, 13.7 and 7%, respectively. Similarly, these countries contribute large amounts of methane worldwide (Figure 3), Brazil and Mexico occupy the fifth and eighth place in the world's most methane-producing countries.



**Figura 2. Contribución regional de las emisiones de metano en 2011.** Fuente: Instituto de Recursos Mundiales (CAIT, 2011).

**Figure 2. Regional contribution of methane emissions in 2011.** Source: World Resources Institute (CAIT, 2011).

Ruminants are a major source of methane released in the atmosphere, producing about 33% of the anthropogenic methane emissions (Eckard *et al.*, 2010). Methane is a natural byproduct of digestion of ruminants, where methanogenic archaea bacteria present in the rumen use the CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub> originated from the microbial fermentation of plant fiber to form methane and reduce accumulation of H<sub>2</sub> in the rumen.

Los rumiantes son una de las principales fuentes de metano liberado en la atmósfera, ya que producen alrededor de 33% del total de las emisiones antropogénicas de metano (Eckard *et al.*, 2010). El metano es un subproducto natural del proceso digestivo de los rumiantes, donde las bacterias arqueas metanogénicas presentes en el rumen usan el CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub> que se originan a partir de la fermentación microbiana de la fibra de las plantas, para formar metano y reducir la acumulación de H<sub>2</sub> en el rumen.

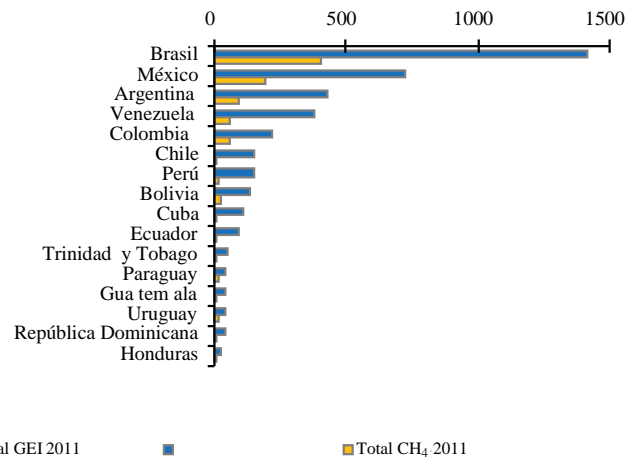
El metano no se usa por el animal como fuente de energía y se elimina a través de los pulmones o el eructo hacia la

atmósfera (Crutzen *et al.*, 2006). Por lo tanto, la producción de metano en rumiantes representa una pérdida de energía para el sistema, la cual puede llegar a representar hasta 7% del total de la energía bruta ingerida por el animal en un día (Hristov *et al.*, 2013). Así, que el desarrollo de estrategias para reducir la producción de metano en el rumen puede, por un lado, contribuir a mitigar los efectos del metano sobre el cambio climático, y de otro lado traer beneficios económicos a los ganaderos al hacer animales más eficientes en cuanto al uso de la energía de los alimentos.

### Avances en medición de misiones de metano a partir de la fermentación entérica de los rumiantes en América latina y el Caribe

Actualmente la mayoría de los esfuerzos en la región de ALC para reducir el metano producido por los rumiantes están enfocados a la cuantificación de los volúmenes de la emisión, la determinación de los factores de emisión y el cálculo de los inventarios nacionales, mientras que pocos estudios se han concentrado en el desarrollo de estrategias de mitigación. Esto se debe a que hasta hace poco que los gobiernos y los científicos de la zona se dieron cuenta de la importancia del papel que desempeñan el ganado bovino, ovino y caprino en la producción y la emisión de grandes cantidades de metano hacia la atmósfera y de sus influencias en el cambio climático. De hecho, la primera conferencia regional sobre gases de efecto invernadero provenientes de la agricultura tuvo lugar en Chile en 2014. La situación en ALC contrasta grandemente con países de Europa, Norte América y algunos de Oceanía donde se han realizado un gran número de estudios sobre el tema desde hace ya varias décadas (Blaxter y Clapperton, 1965).

La literatura revisada por los autores del presente estudio muestra que las primeras iniciativas para conocer la magnitud del problema, están encaminadas hacia el



**Figura 3. Emisiones totales de metano en relación con la emisión total de gases de efecto invernadero en los principales países de América Latina y el Caribe (CAIT, 2011). Mt CO<sub>2</sub>e= megatoneladas de CO<sub>2</sub> equivalente.**

**Figure 3. Total emissions of methane in relation to total greenhouse gas emissions in the main countries of Latin America and the Caribbean (CAIT, 2011). Mt CO<sub>2</sub>e= Megatons of CO<sub>2</sub> equivalent.**

Methane is not used by the animal as an energy source and excreted through the lungs or belching into the atmosphere (Crutzen *et al.*, 2006). Therefore, the methane production in ruminants represents a loss of energy for the system, which can represent up to 7% of the gross energy ingested by the animal in a day (Hristov *et al.*, 2013). Thus, the development of strategies to reduce methane production in the rumen can, on one hand, help mitigating the effects of methane on climate change, and on the other hand bring economic benefits to farmers by making animals more efficient in the use of food energy.

### Advances in methane emissions measurement from the enteric fermentation of ruminants in Latin America and the Caribbean

Currently, most efforts in the LAC region to reduce methane produced by ruminants are focused on quantification of emission volumes, determination of emission factors and calculation of national inventories, while few studies have focused on the development of mitigation strategies. This is because it was not until recently that governments and scientists in the area realized the importance of the role of cattle, sheep and goats in the production and emission of large quantities of methane into the atmosphere and its

desarrollo de las instalaciones y la infraestructura, que permitirá a los investigadores medir las emisiones de metano y así generar la línea base en la que los gobiernos locales podrán negociar los compromisos de mitigación dentro de los protocolos internacionales vigentes. Los inventarios de emisiones fiables reducirán la incertidumbre actual y permitirán el seguimiento de las emisiones de los sistemas de producción pecuaria antes y después de la implementación de estrategias de mitigación, por lo que la reducción de las emisiones puede ser corroborada y la eficacia de la estrategia evaluada.

La generación de factores locales de emisión de metano por los rumiantes es un reto emergente para los países de la región de ALC, ya que exige instalaciones costosas, equipo científico y un importante número de experimentos con un gran número de animales durante periodos de tiempo relativamente largos que permiten una caracterización precisa de las emisiones. Una revisión de la literatura disponible revela un pequeño número de estudios sobre el tema, a pesar de que los sectores, agricultura y ganadería, son dos de las principales actividades económicas de la región.

Uno de los primeros estudios sobre la emisión de metano en América Latina se realizó en Argentina, un país con 51 millones de cabezas de ganado, por Bárbaro *et al.* (2008). Dichos autores utilizaron la técnica de hexafluoruro de azufre (SF<sub>6</sub>) (Johnson *et al.*, 1994) para medir la emisión de metano en un grupo de novillos de raza Aberdeen Angus de 14 meses de edad. La mitad de ellos estaban pastoreando un pasto nativo y la otra mitad un pasto cultivado, dominado por raigrás (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*Trifolium repens*).

El estudio se llevó a cabo en una región de clima templado de Argentina. La producción de metano registrada fue de 227 y 248 L de CH<sub>4</sub> cabeza<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>, respectivamente, y una ganancia media diaria de peso para ambos grupos de 1.3 kg día<sup>-1</sup>. En un experimento similar llevado a cabo por Bualo *et al.* (2014) con 20 vacas de carne de un peso vivo promedio de 382 kg, la mitad de las vacas tuvo acceso durante seis horas a una pradera de gramíneas y leguminosas mixta y la otra mitad tuvo acceso a una pradera de sorgo (*Sorghum* spp.) también durante seis horas. La técnica SF<sub>6</sub> fue utilizada también en este experimento y las emisiones promedio de metano fueron muy parecidas al experimento anterior, del orden de 291 y 234 L vaca<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>, respectivamente.

influences on climate change. In fact, the first regional conference on greenhouse gases from agriculture took place in Chile in 2014. The situation in LAC contrasts sharply with countries in Europe, North America and some in Oceania where a large number of studies have been carried out on the theme for several decades (Blaxter and Clapperton, 1965).

The literature reviewed by the authors of this research shows that the first initiatives to know the magnitude of the problem, are directed towards the development of facilities and infrastructure, that will allow the researchers to measure the emissions of methane and thus generate the baseline in which the local governments will be able to negotiate the mitigation commitments within the existing international protocols. Reliable emissions inventories will reduce current uncertainty and allow monitoring of emissions from livestock production systems before and after the implementation of mitigation strategies, thus emissions reduction can be corroborated and the strategy effectiveness evaluated.

The generation of local factors of methane emission by ruminants is an emerging challenge for the countries of the LAC region, as it requires costly installations, scientific equipment and a large number of experiments with a large number of animals over relatively long periods of time that would allow an accurate characterization of emissions. A review of available literature reveals a small number of studies on the subject, although the agriculture and livestock sectors, are two of the main economic activities of the region.

One of the first studies on methane emission in Latin America took place in Argentina, a country with 51 million head of cattle, by Bárbaro *et al.* (2008). These authors used the technique of sulfur hexafluoride (SF<sub>6</sub>) (Johnson *et al.*, 1994) to measure the methane emission in a group of Aberdeen Angus steers 14 months old. Half of them were grazing native pasture and half cultivated grass, dominated by ryegrass (*Lolium perenne*) and white clover (*Trifolium repens*).

The study was carried out in a temperate climate region of Argentina. Methane production recorded was 227 and 248 L of CH<sub>4</sub> head<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>, respectively, and an average daily weight gain for both groups of 1.3 kg day<sup>-1</sup>. In a similar experiment carried out by Bualo *et al.* (2014) 20 beef cows with an average weight of 382 kg, half the cows had access for six hours at a grasses and legumes meadow and the other half had access to a sorghum (*Sorghum* spp.) meadow also for six hours. The SF<sub>6</sub> technique was also used in this

En Chile Muñoz *et al.* (2015) realizaron uno de los primeros estudios para medir la producción de metano entérico por el ganado lechero en pastoreo en ese país. De igual manera, utilizaron la técnica de SF6 en 24 vacas pastando en una pradera de raigrás. Estos autores han observado que el aumento del nivel de suplementación con concentrado de 1 kg a 5 kg vaca<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>, ha resultado en un incremento en la producción de leche y la producción total de metano al pasar de 452 a 500 L CH<sub>4</sub> vaca<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>, respectivamente, sin afectar la producción de metano por unidad de leche producida.

En un estudio similar, Herrera *et al.* (2014) evaluaron el efecto de la suplementación con concentrado sobre la producción de metano por las vacas Holstein multíparas con un peso vivo promedio de 597 kg en su etapa final de la lactancia (15 kg leche vaca<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) que pastaban en una pradera de *Lolium perenne*. Estos autores utilizaron la técnica SF6 para medir la producción de metano y dos niveles de suplementación de concentrados, 4 y 8 kg vaca<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>. Como en el estudio anterior, sus resultados también mostraron que los niveles crecientes de concentrado resultaron en más metano producido, el cual pasó de 406 L vaca<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> en las vacas que recibieron 4 kg de concentrado a 449 L vaca<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> en aquellas con 8 kg de concentrado. Sin embargo, en este estudio se ha producido menos metano ( $p < 0.05$ ) por kilogramo de ración total mezclada consumida por vaca en el tratamiento con 8 kg de concentrado que en el tratamiento con 4 kg de concentrado (29.5 vs 33 L CH<sub>4</sub> kg<sup>-1</sup> de dieta).

Brasil es un caso especial porque tiene el mayor rebaño comercial de bovinos en el mundo, con más de 212 millones de cabezas, por lo que la fermentación entérica de esta especie ganadera es responsable de más de 73% de todo el metano antropogénico producido en ese país (Cerri *et al.*, 2009). Esta situación puede explicar por qué Brasil es uno de los pocos países de la región que ha invertido en la construcción y operación de cámaras de respiración para medir *in vivo* la producción de metano y otros estudios colorimétricos tendientes a evaluar diversas alternativas para mitigar la emisión de metano por el ganado.

Por ejemplo, un estudio fue realizado por Gonçalves *et al.* (2014) con el fin de determinar el efecto de la calidad de un ensilaje hecho con el forraje Bermuda var. Tifton 85 en diferentes etapas de crecimiento (25, 45, 56, 74 y 90 días), sobre la producción de metano por ovejas adultas. En dicho estudio utilizaron 25 ovejas con un peso vivo promedio de 46.5 kg y la emisión de metano fue medida con un sistema

experiment and the average methane emissions were very similar to the previous experiment, within the range of 291 and 234 L cow<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>, respectively.

In Chile Muñoz *et al.* (2015) conducted one of the first studies to measure enteric methane production by dairy cattle grazing in that country. Similarly, they used the SF6 technique in 24 cows grazing in a ryegrass meadow. These authors observed that increasing the level of supplementation with concentrated of 1 kg to 5 kg cow<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> has resulted in an increase in milk production and the total production of methane going from 452-500 L CH<sub>4</sub> cow<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>, respectively, without affecting the methane production per unit of milk produced.

In a similar study, Herrera *et al.* (2014) evaluated the effect of concentrate supplementation on methane production by multiparous Holstein cows with an average live weight of 597 kg in their final stage of lactation (15 kg milk cow<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>) grazing in a *Lolium perenne* meadow. These authors used the SF6 technique to measure methane production and two levels of concentrate supplementation, 4 and 8 kg cow<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>. As in the previous study, their results also showed that increasing levels of concentrate resulted in more methane produced, going from 406 L cow<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> in cows receiving 4 kg of concentrate to 449 L cow<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> in those with 8 kg of concentrate. However, in this paper less methane has been produced ( $p < 0.05$ ) per kilogram of total mixed ration consumed per cow in the treatment with 8 kg of concentrate than on the treatment with 4 kg concentrate (29.5 vs 33 L CH<sub>4</sub> kg<sup>-1</sup> diet).

Brazil is a special case because it has the largest commercial herd of cattle in the world, with more than 212 million head, reason why the enteric fermentation of this cattle species is responsible for more than 73% of all the anthropogenic methane produced in that country (Cerri *et al.*, 2009). This situation may explain why Brazil is one of the few countries in the region that has invested in the construction and operation of respiration chambers to measure *in vivo* the methane production and other colorimetric studies tending to evaluate various alternatives to mitigate methane emissions by livestock.

For example, a study conducted by Gonçalves *et al.* (2014) in order to determine the effect of the quality of silage made with Bermuda var. Tifton 85 forage in different growth stages (25, 45, 56, 74 and 90 days), on the production of methane by adult sheep. In this study, 25 sheep were used

de calorimetría indirecta de circuito abierto. Sus resultados no mostraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos para el consumo de materia seca (MS) ( $1.081 \text{ g MS cabeza}^{-1} \text{ día}^{-1}$ ) y la producción de metano ( $23.8 \text{ L cabeza}^{-1} \text{ día}^{-1}$ ).

En un estudio similar también con ovejas, Machado *et al.* (2011) evaluaron el efecto de ensilaje de sorgo hecho con tres variedades diferentes de sorgo en tres diferentes etapas de crecimiento en la producción de metano. Encontraron que las emisiones de metano variaron, sin significancia estadística ( $p > 0.05$ ), de  $13.6$  a  $24.4 \text{ L cabeza}^{-1} \text{ día}^{-1}$ , mientras que el consumo varió entre  $832$  y  $911 \text{ g MS cabeza}^{-1} \text{ día}^{-1}$  en ovejas de  $47.5 \text{ kg}$  de peso vivo.

En cuanto al ganado lechero en las regiones tropicales de Brasil, Primavesi *et al.* (2004) reportaron que la emisión de metano por las vacas Holstein pastando pasto *Brachiaria* spp., varió de  $564$ ,  $389$  y  $294 \text{ L cabeza}^{-1} \text{ día}^{-1}$  en vacas lactantes, vacas secas y novillas, respectivamente. En el mismo orden, el consumo de materia seca fue  $16$ ,  $12$  y  $9.5 \text{ kg MS cabeza}^{-1} \text{ día}^{-1}$ , lo cual confirma lo reportado por Machado *et al.* (2009) con respecto a la relación entre el consumo de MS y la producción de metano.

Por otro lado, encontraron que la producción de metano en vacas Holstein\*Cebú no difiere ( $p > 0.05$ ) de las emisiones observadas en vacas Holstein puras, por ejemplo,  $463$ ,  $413$  y  $286 \text{ L cabeza}^{-1} \text{ día}^{-1}$  en vacas lactantes, vacas secas y novillas, respectivamente. En contraste, en un segundo experimento llevado a cabo por el mismo grupo de investigadores en Brasil compararon de nuevo la cantidad de metano producida por vacas de raza pura Holstein frente a vacas Holstein\*Cebú (Pedreira *et al.*, 2009). Estos investigadores reportaron que las vacas Holstein producen más metano ( $p < 0.05$ ) que las vacas híbridas,  $419 \text{ L día}^{-1}$  vs  $376 \text{ L día}^{-1}$ , respectivamente, a pesar del hecho de que ambos grupos de vacas recibieron la misma dieta. Los resultados de este segundo experimento sugieren que la raza podría ser un factor determinante para la producción de metano y se debe considerar en el cálculo de los inventarios de la región.

En el caso del ganado vacuno de carne en Brasil, Demarchi *et al.* (2003) observaron factores de emisión relativamente menor en las vacas Nellore en comparación con las vacas lecheras, ya que éstos variaron desde  $143$  hasta  $308 \text{ L vaca}^{-1} \text{ día}^{-1}$ . Los mismos autores lograron reducir la producción de metano a  $93.5 \text{ L cabeza}^{-1} \text{ día}^{-1}$  en vacas Nellore adicionando  $7\%$  de grasa en la dieta, como el aceite de palma o soja.

with an average live weight of  $46.5 \text{ kg}$  and the methane emission was measured with an indirect open circuit calorimetry system. Their results showed no significant difference ( $p > 0.05$ ) among treatments for the consumption of dry matter (DM) ( $1.081 \text{ g DM head}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) and methane production ( $23.8 \text{ L head}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ).

In a similar study also with sheep, Machado *et al.* (2011) evaluated the effect of sorghum silage made with three different varieties of sorghum in three different growth stages in methane production. They found that methane emissions varied without statistical significance ( $p > 0.05$ ) from  $13.6$  to  $24.4 \text{ L head}^{-1} \text{ day}^{-1}$ , while the consumption varied between  $832$  and  $911 \text{ g DM head}^{-1} \text{ day}^{-1}$  on sheep of  $47.5 \text{ kg}$  live weight.

As for the dairy cattle in tropical regions of Brazil, Primavesi *et al.* (2004) reported that the methane emission of Holstein cows grazing *Brachiaria* spp., ranged from  $564$ ,  $389$  and  $294 \text{ L head}^{-1} \text{ day}^{-1}$  in lactating cows, dry cows and heifers, respectively. In the same order, the dry matter intake was  $16$ ,  $12$  and  $9.5 \text{ kg DM head}^{-1} \text{ day}^{-1}$ , confirming that reported by Machado *et al.* (2009) regarding the relationship between DM consumption and methane production.

Furthermore, they found that methane production in Holstein\*Zebu cows is not different ( $p > 0.05$ ) from emissions observed in pure Holstein cows, for example,  $463$ ,  $413$  and  $286 \text{ L head}^{-1} \text{ day}^{-1}$  in lactating cows, dry cows and heifers, respectively. In contrast, in a second experiment carried out by the same group of researchers in Brazil, compared again the amount of methane produced by purebred Holstein cows against Holstein\*Zebu cows (Pedreira *et al.*, 2009). These researchers reported that Holstein cows produce more methane ( $p < 0.05$ ) than the hybrid cows,  $419 \text{ L day}^{-1}$  vs  $376 \text{ L day}^{-1}$ , respectively, despite the fact that both groups of cows received the same diet. The results of the second experiment suggest that the race might be a determining factor for the production of methane and should be considered in the calculation of the inventories of the region.

In the case of beef cattle in Brazil, Demarchi *et al.* (2003) observed relatively lower emission factors in Nellore cows compared to dairy cows, which ranged from  $143$  to  $308 \text{ L cow}^{-1} \text{ day}^{-1}$ . The same authors managed to reduce methane production to  $93.5 \text{ L head}^{-1} \text{ day}^{-1}$  in Nellore cows by adding  $7\%$  fat in the diet, such as palm or soybean oil. However, these authors do not recommend the use of palm oil because it had negative effects on voluntary intake and animal yield

Sin embargo, estos mismos autores no recomiendan el uso de aceite de palma, ya que tiene efectos negativos sobre el consumo voluntario y el rendimiento de los animales (Demarchi *et al.* 2003). Por otra parte, los factores de emisión más altos fueron reportados por Canesin *et al.* (2014) en novillos Nellore adultos de 399 kg de peso vivo, pastando *Brachiaria brizantha*, suplementado con pulpa de cítricos, torta de semilla de algodón y urea. La cantidad de metano producido por los novillos Nellore adultos varió entre 316 y 355 L día<sup>-1</sup> para un consumo promedio de 7.7 kg MS.

En México los avances en la estimación de los factores de emisión y los inventarios han sido limitados, sin duda es el más rezagado de los grandes países ganaderos de la región, los pocos trabajos que existen están basados en estudios *in vitro* (González y Ruiz, 1995) y modelación (Castelán *et al.*, 2013), estos últimos autores estiman que el metano producido por los 32 millones de cabezas de ganado en México está cerca de dos tera gramos. Fue hasta 2014 que las dos primeras cámara de la respiración se construyeron en la Universidad Autónoma de Yucatán en el sur de México.

El nuevo equipo permite medir *in vivo* las emisiones de metano en ovinos y bovinos en las regiones de clima tropical del sur de México. Los resultados de los primeros experimentos llevados a cabo sugieren que la producción de metano de ganado Cebú alimentado con gramíneas tropicales oscila entre 74 L cabeza<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> en animales jóvenes con un consumo promedio de 4.4 kg MS día<sup>-1</sup> y 348 L cabeza<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> en vacas adultas. Los factores de emisión de las ovejas varían desde 21 hasta 34 L cabeza<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> (Ku-Vera 2014, Com. Pers.).

Por último, los factores de emisión en Uruguay donde el ganado supera en número a las personas (3.6:1), se encuentran entre los más altos de la región. Por ejemplo, Dini *et al.* (2012) mencionaron que las vacas Holstein adultas de un peso vivo promedio de 536 kg alimentadas con pasto y leguminosas (76% *Lolium multiflorum* y 24% *Lotus corniculatus*) puede producir hasta 521 L cabeza<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>. Estos volúmenes pueden atribuirse a una dieta rica en forrajes porque la mayor parte de la producción de ganado en el país se basa en el pastoreo de praderas nativas y mejoradas.

#### **Avances en la mitigación de emisiones de metano a partir de la fermentación entérica**

Algunos estudios han sido realizados en la región para reducir la fermentación entérica en rumiantes con el uso de aceites y plantas taníferas con resultados variables. Por ejemplo en

(Demarchi *et al.*, 2003). Moreover, the higher emission factors were reported by Canesin *et al.* (2014) in adults Nellore steers of 399 kg live weight, grazing *Brachiaria brizantha*, supplemented with citrus pulp, cotton seed cake and urea. The amount of methane produced by adult Nellore steers ranged from 316 to 355 L day<sup>-1</sup> for an average intake of 7.7 kg DM.

In Mexico advances in estimating emission factors and inventories have been limited, it is certainly the most backward of the great cattle countries in the region, the few jobs that exist are based on *in vitro* studies (González and Ruiz, 1995) and modeling (Castelán *et al.*, 2013), these authors estimate that the methane produced by the 32 million head of cattle in Mexico is about two tera grams. It was until 2014 that the first two breathing rooms were built at the Autonomous University of Yucatán in southern Mexico.

The new equipment allows to measure *in vivo* methane emissions in sheep and cattle in tropical regions of southern Mexico. The results of the first experiments carried out suggest that Cebu cattlemethane production fed with tropical grasses ranges from 74 L head<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> in young animals with an average consumption of 4.4 kg DM day<sup>-1</sup> and 348 L head<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> in adult cows. The sheep emission factors range from 21 to 34 L head<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> (Ku-Vera 2014, Com. Pers.).

Finally, the emission factors in Uruguay where cattle outnumber people in a ratio of 3.6 to 1 are among the highest in the region. For example, Dini *et al.* (2012) reported that adult Holsteins with an average live weight of 536 kg fed with grass and legumes (76% *Lolium multiflorum* and 24% *Lotus corniculatus*) can produce up to 521 L head<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>. These high volumes can be attributed to a diet rich in forage because most of the cattle production in the country is based on the grazing of native and improved grasslands.

#### **Advances in the mitigation of methane emissions from enteric fermentation**

Some studies have been carried out in the region to reduce enteric fermentation in ruminants with the use of oils and tannery plants with variable results. For example, in Colombia, Rodríguez *et al.* (2014) evaluated using the poly-tunnel technique (Murray *et al.*, 2007), the *in vivo* effect of the addition of oregano oil (*Lippia origanoides*) on methane production by Holstein heifers. Oregano oil is known to inhibit methanogenesis in the rumen due to



Colombia, Rodríguez *et al.* (2014) evaluaron, con el uso de la técnica de politúnel (Murray *et al.*, 2007), el efecto *in vivo* de la adición de aceite de orégano (*Lippia origanoides*) sobre la producción de metano por vaquillas Holstein. Se sabe que el aceite de orégano inhibe la metanogénesis en el rumen por su efecto directo sobre el crecimiento de bacterias archae metanogénicas sin afectar a la degradación de la fibra de los forrajes. Sin embargo, estos autores no reportaron un efecto significativo ( $p > 0.05$ ) por la adición de 25 mg kg<sup>-1</sup> de MS de aceite de orégano esencial sobre la producción de metano (175 L cabeza<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>) en novillas alimentadas con una dieta base compuesta de 83% pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y 17% de concentrado comercial, en comparación con aquellas que no recibieron el aceite de orégano (192 L cabeza<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>).

En Argentina, Martínez *et al.* (2014), en un estudio *in vitro*, evaluaron el potencial anti-metanogénico del aceite esencial extraído de cuatro plantas nativas: *Aloysia gratissima*, *Lippia turbinata*, *Schinus molle* y *Tagetes minutas* en comparación con monensina, un antibiótico que ha demostrado su eficacia en reducir la formación de metano en el rumen. Se observó que bajas dosis de *Lippia* (100 mg L<sup>-1</sup> de medio de incubación) y dosis medias de *Aloysia* producen un efecto similar a la monensina sin afectar a la digestibilidad de la fibra del forraje. En México Ayala *et al.* (2014) reportaron que la adición de 450 g MS cabeza<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> de una harina preparada con el fruto del árbol de Parota (*Enterolobium cyclocarpum*) a la dieta de ovejas Pelibuey\*Katahdin, reduce las emisiones de metano hasta 36% en relación con la dieta control.

Otras estrategias de mitigación de las emisiones de metano entérico utilizadas en ALC incluyen el uso de leguminosas arbóreas y arbustos integrados en los sistemas silvopastoriles, se cree que es una forma sostenible de la producción en comparación con los sistemas tradicionales. Los arbustos mejoran la calidad nutricional de la dieta del ganado en pastoreo, mediante el aumento de la concentración de proteína, y reduce la producción de metano por efecto de los metabolitos secundarios como taninos y saponinas presentes en las plantas. Por ejemplo, Mayorga *et al.* (2014) utilizaron la técnica de poli-túnel para evaluar el efecto de *Guazuma ulmifolia*, una planta leguminosa arbustiva, sobre la emisión de metano por novillos Cebú de 10 meses de edad y 191 kg de peso vivo. Observaron que la adición de 30% guazuma en una dieta basal del forraje *Panicum maximum* reduce la emisión de metano a 320 L cabeza<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> en comparación con la dieta control que produce 368 L día<sup>-1</sup>. La dieta experimental también incrementó un 17.5% el consumo diario de materia seca.

its direct effect on the growth of archaean methanogenic bacteria without affecting the degradation of forage fiber. However, these authors reported a significant effect ( $p > 0.05$ ) by the addition of 25 mg kg<sup>-1</sup> of DM of essential oil oregano on methane production (175 L head<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>) in heifers fed on a diet composed of 83% pennisetums (*Pennisetum clandestinum*) and 17% commercial concentrate, compared to those who did not received oregano oil (192 L head<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>).

In Argentina, Martínez *et al.* (2014), in an *in vitro* study evaluated the anti-methanogenic potential of essential oil extracted from four native plants: *Aloysia gratissima*, *Lippia turbinata*, *Schinus molle* and *Tagetes minutas* compared with monensin, an antibiotic that has proven effective in reducing the formation of methane in the rumen. It was observed that low dose *Lippia* (100 mg L<sup>-1</sup> of incubation medium) and mean doses of *Aloysia* show a similar effect to monensin without affecting digestibility of forage fiber. In Mexico Ayala *et al.* (2014) reported that the addition of 450 g DM head<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> of a meal prepared with the fruit of Parota tree (*Enterolobium cyclocarpum*) to the diet of Pelibuey\*Katahdin sheep, reduces methane emissions up to 36% compared with the control diet.

Other strategies to mitigate enteric methane emissions used in LAC include the use of tree legumes and shrubs integrated in silvopastoral systems, which is believed to be a more sustainable form of production compared to traditional livestock systems. Shrubs improve the nutritional quality of grazing cattle diet, usually by increasing protein concentration, and help reduce methane production by the effect of secondary metabolites such as tannins and saponins present in these plants. For example, Mayorga *et al.* (2014) used the poly-tunnel technique to evaluate the effect of *Guazuma ulmifolia*, shrubby leguminous plant, on methane emission of Zebu steers of 10 months old and 191 kg liveweight. They observed that addition of 30% guazuma in a basal diet of *Panicum maximum* fodder reduces the emission of methane to 320 L head<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> compared to the control diet producing 368 L day<sup>-1</sup>. The experimental diet also increased daily consumption of dry matter by 17.5%.

Finally, *Leucaena leucocephala*, a tropical legume native from Mexico, has also proven to be effective in reducing methane emissions by ruminants in tropical regions of LAC. Moreira *et al.* (2013) used the SF6 technique to determine the effect of leucaena in methane production by St. Agnes lambs of eight months old and 28 kg liveweight. The lambs

Por último, *Leucaena leucocephala*, leguminosa tropical originaria de México, ha mostrado ser eficaz en la reducción de las emisiones de metano por los rumiantes en regiones tropicales de ALC. Moreira *et al.* (2013) utilizaron la técnica de SF<sub>6</sub> para determinar el efecto de la leucaena en la producción de metano por corderos en Santa Inés de ocho meses y 28 kg de peso vivo. Los corderos en el grupo experimental recibieron una dieta compuesta 5% harina de soja, 3% de maíz y 82% leucaena, mientras que los corderos en el grupo de control recibieron una dieta con 71% de harina de soja y 29% de maíz.

Los resultados mostraron que la leucaena reduce la producción de metano hasta el 30%, pero también a reduce el consumo de materia seca, 616 y 820 g MS cabeza<sup>-1</sup>día<sup>-1</sup>, respectivamente, lo cual se explica por la elevada concentración de leucaena en la dieta experimental. Por otra parte, los altos niveles de leucaena en la dieta pueden aumentar la concentración de nitrógeno en la orina y las heces de animales, que más tarde pueden ser convertidos a óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), un poderoso gas de efecto invernadero, por las bacterias en el suelo. El potencial de la leucaena para reducir la producción de metano entérico es prometedor; sin embargo, se necesita más investigación antes de llegar a resultados concluyentes, en particular, debido a sus efectos sobre el rendimiento de los animales a altos niveles de inclusión y su potencial de producción de N<sub>2</sub>O, también un contaminante potente.

## Conclusiones

La información presentada en el presente documento sugiere que existe la necesidad urgente de ampliar la información sobre los factores de emisión, inventarios y estrategias de mitigación para las diferentes especies de rumiantes en los países de América Latina y el Caribe, pues en general estos países están muy por detrás de países europeos y de América del Norte. Esta información servirá para orientar el desarrollo de las políticas de mitigación y reducir la incertidumbre en los inventarios de metano para la región.

## Literatura citada

Ayala, A.; Albores, M. S.; Alayón, G. J.; Aguilar, P. C.; Solorio, S. F.; Ramírez, L. V.; Magaña, M. J. y Ku, V. J. 2014. Efecto del fruto molido de *Enterolobium cyclocarpum* Jacq Griseb. sobre la población de protozoarios y la producción de metano en el rumen de ovinos de pelo. *In: proceeding of primera conferencia de gases de efecto invernadero en sistemas agropecuarios de Latinoamérica.* 105-104 pp.

in the experimental group received a compound 5% soybean meal, 3% corn and 82% leucaena diet while the lambs in the control group received a diet with 71% soybean meal and 29% corn.

The results showed that leucaena reduces the production of methane up to 30%, but also to reduce the consumption of dry matter, 616 and 820 g DM head<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup> respectively matter which is possibly explained by the high concentration of leucaena in the experimental diet. Moreover, high levels of leucaena on the diet might increase nitrogen concentration in the urine and feces of animals, which can be later converted to nitrous oxide (N<sub>2</sub>O), a powerful greenhouse gas by bacteria in the soil. The potential of leucaena to reduce enteric methane production is promising; however, more research is needed before reaching conclusive results, in particular because of its effects on animal performance at high inclusion levels and its potential for N<sub>2</sub>O production, also a potent pollutant.

## Conclusions

The information showed in this paper suggests that there is an urgent need to expand information on emission factors, inventories and mitigation strategies for different species of ruminants in the countries of Latin America and the Caribbean, as these countries are generally far behind from European and North America countries. This information will guide the development of mitigation policies and reduce uncertainty in methane inventories for the region.

*End of the English version*



Bárbaro, N.; Gere, R.; Gratton, R.; Rubio, R. and Williams, K. 2008. First measurements of methane emitted by grazing cattle of the Argentinean beef system. New Zealand. *New Zealand J. Agric. Res.* 51(2):209-219.

Blaxter, K. L. and Clapperton J. L. 1965. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *British J. Nutr.* 19:511-522.

Bualo, R.; Gere, J.; Pierini, A.; Arias, R.; Ortega, F.; Wulff, A. y Berra, G. 2014. Determinación y comparación de factores de emisión de metano entérico para vacas de cría en condiciones de pastoreo con dos dietas diferentes. *In: proceeding of primera conferencia de gases de efecto invernadero en sistemas agropecuarios de Latinoamérica.* Alfaro, M. V.; González,

S. M.; Hube, S. S.; Muñoz, C. M.; Pinares, P. C. y Ungerfeld, E. Núm. 54. INIA. Chile. 103-104 pp.

- Canesin, C. R.; Berchielli, T. T.; Messana, J. D.; Baldi, F.; Pires, A. P.; Frighetto, R. T. S.; Fiorentini, G. and Reis, R. A. 2014. Effects of supplementation frequency on the ruminal fermentation and enteric methane production of beef cattle grazing in tropical pastures. *Brazil. Rev. Bras. Zoot.* 43(11):590-600.
- Cerri, C. C.; Maia, S. M. F.; Galdos, M. V.; Cerri, C. E. P.; Feigl, B. J. and Bernoux, M. 2009. Brazilian greenhouse gas emissions: the importance of agriculture and livestock. *Brazil. Sci. Agric.* 66(6):831-843.
- Crutzen, P. J.; Sanhueza, E. and Brenninkmeijer, C. A. M. 2006. Methane production from mixed tropical savanna and forest vegetation in Venezuela. *Atmospheric Chemistry and Physics Discussions.* 6(2):3093-3097.
- Demarchi, J. J. A. A.; Manella, M. Q.; Lourenço, A. J.; Alleoni, G. F.; Frighetto, R. S.; Primavesi, O. and Lima, M. A. 2003. Daily methane emission at different seasons of the year by Nelore cattle in Brazil grazing *Brachiaria brizantha* cv. Marandu preliminary results. In: world conference on animal production. Núm 9. Porto Alegre, Brazil. 19 p.
- Dini, Y.; Gere, J.; Briano, C.; Manetti, M.; Juliarena, P.; Picasso, V.; Grantton, R. and Astigarraga, L. 2012. Methane emission and milk production of dairy cows grazing pastures rich in legumes or rich in grasses in Uruguay. *Animals.* 2(2):288-300.
- Eckard, R. J.; Grainger, C. and de Klein, C. A. M. 2010. Options for the abatement of methane and nitrous oxide from ruminant production: a review. *Livestock Science.* 130(1-3):47-56.
- Gonçalves de Faria, W.; Gonçalves, L. C.; Gonzara, J. D. y Nogueira, C. J. C. 2014. Emisiones de metano en ovinos alimentados con ensilados de Bermuda Tifton 85 en diferentes edades de corte. In: proceeding of primera conferencia de gases de efecto invernadero en sistemas agropecuarios de Latinoamérica. Alfaro, M. V.; González, S. M.; Hube, S. S.; Muñoz, C. M.; Pinares, P. C. y Ungerfeld, E. Núm. 54. INIA. Chile. 91-92 pp.
- Herrera, D.; Hube, S.; Morales, J.; Ungerfeld, E. y Muñoz, C. 2014. Efecto de la suplementación con concentrado sobre las emisiones de metano y desempeño productivo de vacas lecheras en lactancia tardía. In: proceeding of primera conferencia de gases de efecto invernadero en sistemas agropecuarios de Latinoamérica. Alfaro, M. V.; González, S. M.; Hube, S. S.; Muñoz, C. M.; Pinares-Patiño, C. y Ungerfeld, E. Núm. 54. INIA. Chile. 89-90 pp.
- Hristov, A. N.; Oh, J.; Firkins, J. L.; Dijkstra, J.; Kebreab, E.; Waghorn, G.; Makkar, H. P.; Adesogan, A. T.; Yang, W.; Lee, C.; Gerber, P. J.; Henderson, B. and Tricarico, J. M. 2013. Special topics- mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. *J. Animal Sci.* 91(11):5045-5069.
- Huarte, A.; Cifuentes, V.; Gratton, R. and Clausse, A. 2010. Correlation of methane emissions with cattle population in Argentine Pampas. *Atmospheric Environment.* 44(23):2780-2786.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2007. United Nations Environment Programme. Assessment Report 4: Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Geneva, Switzerland.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2014. Summary for Policymakers. In: Climate Change 2014, Mitigation of climate change. Contribution of Working Group III to the fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change.

Johnson, K.; Huyler, M.; Westberg, H.; Lamb, B. and Zimmarman, P. 1994. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a sulfur hexafluoride tracer technique. *Environ. Sci. Technol.* 28(2):359-362.

Johnson, K. A.; Westberg, H. H.; Michel, J. J. and Cossalman, M. W. 2007. The SF6 tracer technique: Methane measurement from ruminants. *In: measuring methane production from ruminants.* Makkar, H. P. S. y Vercoe, P. E. IAEA. 33-67 pp.

Machado, F. S.; Rodriguez, N. M.; Gonçalves, L. C.; Ribas, M. N.; Rodrigues, J. A. S. y Pereira, L. G. R. 2011. Emissão de metano entérico por ovinos alimentados com silagens de sorgo. *In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia. O desenvolvimento da produção animal e a responsabilidade frente a novos desafios: anais.* Belém. Brazil.

Martínez, J. F.; García, F.; Brunetti, M. A.; Cora, A.; Frossasco, G.; Lucini, E.; Moreno, M. V.; Martínez, M. J. y Colombatto, D. 2014. Evaluación *in vitro* del potencial antimetanogénico de aceites esenciales extraídos de plantas nativas de Argentina. *In: primera conferencia de gases de efecto invernadero en sistemas agropecuarios de Latinoamérica.* Alfaro, M. V.; González, S. M.; Hube, S. S.; Muñoz, C. M.; Pinares-Patiño, C. y Ungerfeld, E. NÚM. 54. INIA. Chile. 95-96 pp.

Mayorga, O.; Angarita, E.; Zambrano, R.; Cardozo, J. y Ospina, S. 2014. Emisiones de metano entérico en novillos cebú con y sin la inclusión de *Guazuma ulmifolia* sobre dietas de *Panicum maximum* en el Caribe seco colombiano. *In: primera conferencia de gases de efecto invernadero en sistemas agropecuarios de Latinoamérica.* Alfaro, M. V.; González, S. M.; Hube, S. S.; Muñoz, C. M.; Pinares-Patiño, C. y Ungerfeld, E. Núm. 54. INIA. Chile. 97-98 pp.

Messana, D. J.; Canesin, R. C.; Fiorentini, G.; Reis, R. A.; Arcuri, P. B. y Berchielli, T. T. 2014. Intake, performance and estimated methane production of Nellore steers fed soybean grain. *Rev. Bras. Zoot.* 43(12):662-669.

Moreira, G. D.; Lima, P. T.; Borges, B. O.; Primavesi, O.; Longo, C.; McManus, C.; Abdalla, A. and Louvandini, H. 2013. Tropical tanniniferous legumes used as an option to mitigate sheep enteric methane emission. *Tropical Animal Health and Production.* 45(3):879-882.

Muñoz, C.; Hube, S.; Morales, J.; Yan, T. and Ungerfeld, E. M. 2015. Effects of concentrate supplementation on enteric methane emissions and milk production of grazing dairy cows. *Livestock Sci.* 175:37-46.

Orskov, E. R.; Flatt, W. P. and Moe, P. W. 1968. Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of volatile fatty acid formation in ruminants. *J. Dairy Sci.* 51(9):1429-1435.

Pedreira, M. D. S.; Primavesi, O.; Lima, M. A.; Frighetto, R.; De Oliveira, S. G. and Berchielli, T. T. 2009. Ruminal methane emission by dairy cattle in southeast Brazil. *Scientia Agricola.* 66(6):742-750.

Primavesi, O.; Shiraiishi, F. R. T.; Pedreira, M. S.; de Lima, M. A.; Berchielli, T. T. y Barbosa, P. F. 2004. Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras. *Pesquisa Agropecuária Brasileira.* 39(3):277-283.

Rodríguez, T.; Angarita, E.; Mestra, L.; Mancipe, E.; Ariza, C. y Mayorga, O. 2014. Evaluación del efecto del aceite esencial de orégano nativo del alto patía sobre la metanogénesis ruminal en novillas del trópico alto de Colombia. *In: primera conferencia de gases de efecto invernadero en sistemas agropecuarios de LA.* Alfaro, M. V.; González, S. M.; Hube, S. S.; Muñoz, C. M.; Pinares-Patiño, C. y Ungerfeld, E. Núm. 54. INIA. Chile. 93-94 pp.

## **7.2. SEGUNDO CAPÍTULO**

**Development of mathematical models to predict enteric methane emission by cattle  
in Latin America**

M. Benaouda<sup>1</sup>, M. González-Ronquillo<sup>1</sup>, J. A. D. R. N. Appuhamy<sup>2</sup>, E. Kebreab<sup>3</sup>, L. T. Molina<sup>4</sup>, J. Herrera-Camacho<sup>5</sup>, O. A. Castelán Ortega<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México.  
Instituto Literario No. 100, colonia Centro C.P. 50000, Toluca, México.

<sup>2</sup>Department of Animal Science, Iowa State University, Ames IA, USA.

<sup>3</sup>Department of Animal Science, University of California, Davis CA, USA.

<sup>4</sup>Molina Center for Energy and the Environment, La Jolla, California, USA.

<sup>5</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán, México.

[oaco2002@yahoo.com.mx](mailto:oaco2002@yahoo.com.mx) corresponding author.

## ABSTRACT

Ruminant production systems contribute considerably to anthropogenic greenhouse gas emissions through enteric methane (CH<sub>4</sub>) production. Although there has been several studies that aim to quantify enteric emissions, efforts have been largely limited to cattle in developed countries. Therefore, our objective was to develop a set of empirical models to predict enteric CH<sub>4</sub> emissions by cattle in Latin America (LA) using variables that are routinely available. A database was compiled from studies published in the literature on enteric CH<sub>4</sub> production in cattle. Only data from experiments conducted in Latin America using cattle in respiration chambers or the sulphur hexafluoride tracer technique were included in the database. In total, there were 80 treatment means of enteric CH<sub>4</sub> emission measurements made on 490 individual animals (394 beef and 96 dairy cattle). Eleven treatment means related to feed additives with anti-methanogenic properties were excluded in order to avoid the possibility that the models would underestimate emissions of cattle fed regular diets. Therefore, 69 treatment means were used. Simple and multiple regression analyses were conducted in order to identify the individual or multiple factors explaining significantly the enteric CH<sub>4</sub> emissions. All the analyses were carried out in a mixed-model framework where the individual study effect was considered to be random. Daily enteric CH<sub>4</sub> production by cattle in Latin America ranged from 50 to 400 g/head with an average of 200 g/head. This large variation in daily CH<sub>4</sub> emission suggests that the use of a default value for inventory calculation in Tier 1 method may not be an appropriate approach for the LA region. It was concluded that the best models developed in the present work to predict CH<sub>4</sub> emissions are those that include dry matter intake and gross energy intake (RMSPE: 25.1 and 12.7%, respectively) in the equation. The model, which includes gross energy intake (GEI), is similar to that of IPCC Tier 2 in that both assume that 6.5% of the

GEI is lost as methane. The predictive ability of this model is further improved when the digestibility of the dry matter is included in the equation (Eq 2.4, RMSPE= 12.1), and a similar prediction error was observed when the NDF content is included.

**Key words:** cattle, enteric methane, Latin America, mathematical models.

## INTRODUCTION

Greenhouse gas (GHG) emissions from livestock production systems have become a concern in last few decades because the sector is estimated to contribute about 14.5% of global GHG emissions (FAOSTAT, 2014). Methane (CH<sub>4</sub>) is recognized as the second most important GHG emitted by anthropogenic sources (IPCC 2006). Enteric CH<sub>4</sub> from ruminant livestock contributes approximately one fourth of total global anthropogenic CH<sub>4</sub> emissions (Beauchemin *et al.*, 2008). Enteric CH<sub>4</sub> produced per unit of human food, also called CH<sub>4</sub> intensities, significantly vary from region to region. Developing countries are associated with greater CH<sub>4</sub> intensities than developed countries. For instance, agricultural systems in Latin America are related to CH<sub>4</sub> intensities of 100 to 250 kg of CO<sub>2</sub> equivalent per kg of edible protein, while those values are mostly less than 50 kg of CO<sub>2</sub> equivalent for North America and Europe (Gerber *et al.*, 2013). Enteric methane production also represents a loss of energy for the animal and thus reduces feed utilization efficiency. Depending on the amount of feed consumed, diet composition and other animal related factors, the energy lost as CH<sub>4</sub> varies between 2% and 12% of the gross energy (GE) intake (Johnson and Johnson, 1995). This percentage of GE intake lost as CH<sub>4</sub> is called a CH<sub>4</sub> conversion factor, Y<sub>m</sub> and is generally used in determining CH<sub>4</sub> emission factors of livestock (kg/animal per year) in national GHG inventories. The Intergovernmental Panel for Climate Change (IPCC) Tier 2 guidelines recommend a constant Y<sub>m</sub> of 6.5% for dairy



cattle globally. However, Appuhamy *et al.* (2016) showed that the 6.5%  $Y_m$  does not work for all regions of the world and suggested that region or perhaps country-specific  $Y_m$  needs to be calculated to determine the emission factors accurately. The authors evaluated models for Europe, North America and Australia and New Zealand but not Latin America or Asia.

In Latin America, it was only recently that CH<sub>4</sub> emission measurements made on cattle began to be available for determining corresponding CH<sub>4</sub> emission factors (e.g., Fiorentini *et al.*, 2014; Muñoz *et al.*, 2015; Castelán-Ortega *et al.*, 2015). High equipment cost (e. g., respiration chambers), and complex methodologies often limit enteric CH<sub>4</sub> emission measurements on live animals even in developed countries. Therefore, mathematical models including those recommended by IPCC (2006) are commonly used to estimate CH<sub>4</sub> emission factors of cattle. However, most of the empirical models have been developed using data collected outside the Latin American region. So, these models may not be applicable to cattle in Latin America which are quite different in terms of genetic potential, diet, climate, and management system. Therefore, the objectives of the present work were to (1) develop a set of empirical models to predict enteric CH<sub>4</sub> emissions by cattle in Latin America using variables that are routinely available and (2) to evaluate prediction performance of those models compared to the performance of extant models.

## MATERIALS AND METHODS

### *Data Sources*

A database was compiled from studies on enteric CH<sub>4</sub> production in cattle published in scientific journals and conference proceedings. Only data from experiments conducted on cattle in Latin America and measuring methane using respiration chambers or the SF<sub>6</sub> technique were included. A search using Scimedirect, Scopus, Springerlink and Google Scholar resulted in a total of 27 studies that met the requirement. Keywords “enteric methane”, “Latin America”, “cattle” and “*in vivo*” were used in the searches and studies published in English and Spanish were retrieved. In order to be included in the final database used for model development, the papers had to meet additional criteria such as reporting an adequate description of the animals used, a proper description of the diet’s chemical composition and DMI. Twenty studies met these criteria and were included in the final database (Cota *et al.* 2014; Pedreira *et al.* 2004, 2009, 2012; Demarchi *et al.* 2003; Fiorentini *et al.* 2014; Canesin 2009; Canesin *et al.* 2014; Mercadante *et al.* 2015; Molina *et al.* 2015, 2016; Moysés *et al.* 2007; Dini *et al.* 2012; Menezes *et al.* 2016; Muñoz *et al.* 2015; Primavsi *et al.* 2004; Bárbaro *et al.* 2008; Neto *et al.* 2009; Possenti *et al.* 2008; Oliveira *et al.* 2007).

The selected studies were conducted in different countries of Latin America including Argentina, Brazil, Chile, Colombia, Uruguay and Mexico. In total, there were 80 treatment means of enteric CH<sub>4</sub> emission measurements representing 490 individual animals (394 beef and 96 dairy cattle). Eleven treatment means, from 7 studies, related to feed additives with anti-methanogenic properties (e.g., monensin, tannins, enzymes, etc.) were excluded in order to avoid the possibility that the models underestimate emissions of cattle fed

regular diets. Therefore, the final database included 69 treatment means. The animal and dietary factors used as potential predictor variables to the models were body weight (BW, kg), metabolic body weight ( $BW^{0.75}$ ), DMI (kg/d), gross energy intake (GEI, MJ/d), metabolizable energy intake (MEI, MJ/d), and chemical composition of the diet such as NDF and ADF (%). The data covered a broad range of diet compositions as the selected studies had investigated the effect of protein and fat supplementation, the proportion of concentrate, forage type (e.g., grasses vs. legumes), and maturity stage of forages at harvesting on enteric  $CH_4$  emissions.

The  $CH_4$  production reported in the literature was in different units (e.g., g/d, L/d, or MJ/d). When  $CH_4$  emissions were reported in L/d, they were converted to g/d considering 16.0 g molar mass and 22.4 L molar volume [ $g/d = L/d \times (16.0/22.4)$ ]. The emissions in g/d were converted to MJ/d considering the fact that 1 g of  $CH_4$  carries 0.05565 MJ of energy ( $MJ/d = g/d \times 0.05565$ ). A summary of the dietary and animal factors and the  $CH_4$  emission values is given in Table 1. Several calculations were necessary to complete the database because not all the studies reported the necessary information. For example, when OM digestibility (dOM, %) is not reported, it was estimated from the DM digestibility (dDM, %) using equation 1, which was derived from the present database.

$$dOM = -14.7 (\pm 7.56) + 1.2 (\pm 0.13) \times dDM \quad (R^2 = 0.80, n = 30) \quad [1]$$

### *Dietary Nutrient Composition*

Chemical composition of diets was assembled from values published in each study. When some dietary nutrients were not measured or not reported, they were calculated using the table values of the National Research Council (NRC, 2001). When the content of non-structural carbohydrates (NsCh, % DM) was not reported it was calculated using equation 2.

$$\text{NsCh} = 100 - (\text{CP} + \text{EE} + \text{NDF} + \text{Ash})$$

[2]

Where all the nutrient concentrations were in % DM. Similarly, when concentrations of hemicellulose and cellulose of the diets (% DM) were not reported they were calculated by subtracting ADF from NDF and lignin from ADF, respectively. When only the nutrient composition of forage and concentrate was reported separately, concentration of a nutrient in the

<sup>1</sup>BW= live body weight, BW<sup>0.75</sup>=metabolic body weight, DM= dry matter, GE= gross energy, EE=ether extract, NDF=neutral detergent fiber, ADF= acid detergent fiber, Hem= hemicelluloses, CEL= cellulose, LIG= lignin, NsCh= non-structural carbohydrates, dDM= digestibility of the dry matter, dOM= digestibility of the organic matter, DMI= dry matter intake, GEI= gross energy intake, MEI= metabolizable energy intake, CPi= crude protein intake, EEi= ether extract intake, NDFi= neutral detergent fiber intake, ADFi= acid detergent fiber intake, Hem-i= hemicellulose intake, CELi=cellulose intake, LEGi=lignin intake, NsChi= non-structural carbohydrates intake, dDMI= digestible dry mater intake, Ym= percentage of the GEI converted into methane.

diet was calculated using forage and concentrate DMI, and the concentrations of given nutrient in forage and concentrate as shown in equations 3 and 4.

$$X_i = [DMI_c \times X_c] + [DMI_f \times X_f]$$

[3]

$$X_t = (X_i / DMI) \times 100$$

[4]

Where:  $X_i$  = intake of the nutrient in diet (kg/d),  $X_t$  = concentration of the nutrient in diet (% DM),  $DMI_c$  = concentrate DMI (kg/d),  $X_c$  = concentration of the nutrient in the concentrate (% DM),  $DMI_f$  = forage DMI (kg/d), and  $X_f$  = concentration of the nutrient in forage (% of DM).

### ***Statistical Analysis***

The meta-analysis method proposed by St-Pierre (2001) was used to develop models with PROC MIXED procedure of the SAS statistical software (2001 version 8, SAS Institute Inc., Cary, NC). This method takes account of random-effect meta-regression models including fixed effects of the candidate predictor variables (e.g., diet composition) and random effects of individual studies. The random-effect models assume that the selected studies are a random sample of the relevant population (e.g., cattle in Latin America in the present study). The random-effect model is given by:

$$Y_{ij} = B_0 + b_{0i} + B_1 X_{1ij} + b_1 X_{1ij} + B_2 X_{2ij} + \dots + B_p X_{pij} + e_{ij} \quad [5]$$

where  $Y_{ij}$  is the observed enteric CH<sub>4</sub> production (g/d per head) in the  $i^{\text{th}}$  treatment group of the  $i^{\text{th}}$  study,  $B_0$  = intercept,  $b_{0i}$  = random  $i^{\text{th}}$  study-specific effect on intercept,  $X_{1ij}$  to  $X_{pij}$  = predictor variable values of the  $i^{\text{th}}$  treatment group of the  $i^{\text{th}}$  study (number of predictor variables =  $p$ ),  $B_1$  to  $B_p$  = fixed regression effects of the predictor variables representing change in  $Y$  for unit change in a predictor variable, and  $e_{ij}$  is the sampling error [ $e_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ ]. Simple linear regression models were first developed in order to examine how much success could be achieved with simple models in comparison with similar models such as the IPCC (2006) model. Multiple regression equations were then developed using the mixed effect model described in equation 5. We only using variables having considerable and significant correlation ( $r > 0.50$  and  $P < 0.10$ ) with CH<sub>4</sub> production in developing the multiple regression models. The goodness-of-fit of the model were evaluated using Akaike Information Criterion (AIC) and Bayesian Information Criterion (BIC). The lowest AIC and BIC values indicate models that fit best to the data.

To evaluate further the prediction ability of the best-fit models, we used a new database (Table 2), which is independent from the database used for model development and also included experiments conducted only in Latin American region (Andrade *et al.* 2016, Montenegro *et al.* 2016<sup>a</sup>, Montenegro *et al.* 2016<sup>b</sup>, Oliveira *et al.* 2016, Demarchi *et al.* 2016, Hernández-Pineda *et al.* unpublished, Pedraza-Beltrán *et al.* unpublished). The independent database consisted of 132 beef and 32 dairy data. Using this independent dataset, the performance of new models was compared with those of extant models. The extant models compared were those developed by Moe and Tyrrell (1979), IPCC (2006), Patra (2015) and Chermley *et al.* (2016). These models were selected because they were previously shown to perform well across multiple regions of the world (Appuhamy *et al.*,

2016) and also include variables for which information is available in the present database. This comparison was conducted using Mean square prediction error (MSPE) and concordance correlation coefficient (CCC) statistics. The MSPE was calculated as in equation 6.

$$MSPE = \frac{1}{N} \cdot \sum_{i=1}^N (O_i - P_i)^2 \quad [6]$$

where  $O_i$  is the  $i^{\text{th}}$  observed value,  $P_i$  is the  $i^{\text{th}}$  predicted value and  $n$  is the total number of observations. The root MSPE (RMSPE) was calculated as it gives an estimation of the overall prediction error (Theil, 1966) in units of the observed values. Therefore, RMSPE can be expressed as a percentage of the average observed value (RMSPE%) allowing for assessing overall error relative to the magnitude of the measurements. The MSPE was then decomposed into different sources of error including slope bias (ECT), mean bias (ER), and random bias (ED) as described in Bibby and Toutenburg (1977).

The CCC is the product of two statistics, the first is the Pearson's correlation test ( $r$ ), which estimates the deviation of the observed values from the best fit line of regression between observed and predicted values. Therefore, it measures the precision of the predictions. The second statistic is the bias correction factor ( $C_b$ ), which measures the distance between the best fit regression line and the unity line representing the one-to-one relationship between predicted and observed values (error=0). Therefore, it measures prediction accuracy. The  $C_b$  is calculated as in equation 8 below:

$$C_b = \frac{2}{[v + \frac{1}{v} + u^2]} \quad [8]$$

where  $v$  is the ratio between the standard deviation of the observed ( $S_{obs}$ ) and predicted values ( $S_{pred}$ ). The  $u$  measures the difference between the means of observed ( $\mu_{obs}$ ) and predicted ( $\mu_{pred}$ ) values relative to the square root of the product of the two standard deviations [ $u = (\mu_{obs} - \mu_{pred})/\sqrt{S_{obs} \times S_{pred}}$ ], and varies between -1 and +1. The values of  $u$  close to 0 indicate that observed and predicted values are more alike, whereas a positive value indicates an underestimation and a negative value suggests an overestimation (Ellis *et al.* 2010). Additionally, new models were evaluated using residual error plots, where prediction error (observed value - predicted value) was plotted against the predicted values.

## RESULTS AND DISCUSSION

### *Database*

A summary of nutrient the data used for model development is given in Table 1. Diets offered in the experiments are representative of those used in the region. Forages offered include sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), African star grass (*Cynodon plectostachyus* K. Schum), *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, and Guinea grass (*Panicum maximum* cv), which are common in Latin America. Chemical composition of the diet had a wide range allowing models to better capture the relationships of diet and the response variables. For instance, CP content varied from 3 to 21% DM and NDF ranged from 34 to 82% DM. The proportion of forage in the diet had also a wide range as it varied from 50 to 100% DM. The lignin content of the diets varied substantially from 0.6 to 8.4 % DM indicating a greater variability in fiber digestibility. The characteristics of the animals used in the different experiments were also variable. For example BW varied from 215 to 641 kg. Overall, the data represent well the cattle feeding systems in Latin America, which are quite



different from the other regions of the world (e.g., different cattle breeds, and different forage types and qualities). This discrepancy prompted us to hypothesize that models developed using data from Latin American cattle would be able to predict their emissions more accurately than the models developed using data from other regions.

The amount of daily CH<sub>4</sub> produced per animal ranged from 49 to 403 g with a mean value of 200 g (Table 1), which is wider than the default range (105 to 155 g/d per animal) defined by the IPCC (2006) guidelines for cattle in Latin America. The Y<sub>m</sub> varied from 3.3 to 12.3% with a mean of 6.4%. This Y<sub>m</sub> range is in line with the ranges reported for cattle in other regions (e.g., Hristov *et al.*, 2013). Enteric CH<sub>4</sub> production expressed as g/kg of DMI was also quite variable with an average value of 20 g/kg DMI, which is similar to the mean values of North American and European cattle in Ellis *et al.* (2007) but lower than the value (32 g/kg DMI) in Ramin and Huhtanen (2013).

### ***Relationship between Dietary and Animal Factors with Methane Production***

Table 3 gives the correlation coefficients for relationships between animal and dietary factors, and CH<sub>4</sub> production. Daily CH<sub>4</sub> production was positively correlated ( $P < 0.05$ ) with BW, DMI, NDF intake (NDFi), hemicellulose intake (HEMi), cellulose intake (CELi), and GEI. There was also a significant negative correlation ( $r = -0.43$ ,  $P < 0.0001$ ) between CH<sub>4</sub> production and crude fat intake (EEi). Similar results were reported by various authors including Mills *et al.* (2003), Yan *et al.* (2009) and Patra (2015) who also quantified the relationship between CH<sub>4</sub> production and the total daily intake of nutrients in the diet. The concentration of NDF, ADF and lignin in the diet (% of DM) had weak negative correlations with CH<sub>4</sub> production [ $r = -0.25$  ( $P$  value = 0.038) and  $-0.24$  ( $P$  value = 0.038), respectively in Table 3]. Given the fact that the amount of digestible organic

matter primarily drives enteric methane production, these relationships can partly be explained using the positive relationship between NDF content and indigestible lignin content across the diets (Figure 1) and the negative relationships of diet digestibility with dietary NDF and ADF concentrations (Figure 2a and b). Since CH<sub>4</sub> production is often strongly and positively related to DMI ( $r = 0.83$  in the present study), the negative association between CH<sub>4</sub> production and dietary NDF concentration appeared also to be confounded in a negative association between the NDF and DMI ( $r = -0.42$ , data not shown). Nonetheless, as a result of the much stronger positive relationship between DMI and CH<sub>4</sub> production compared to the negative relationships of the NDF and ADF concentrations, dietary NDF and ADF intake had significantly positive relationships with CH<sub>4</sub> production ( $r = 0.73$  and  $0.66$ , respectively). Similarly, the correlation of daily intake of GE and EE with CH<sub>4</sub> production ( $r = 0.84$  and  $r = -0.43$ , respectively) were greater than the correlation of the dietary concentration of both nutrients ( $r = 0.20$  and  $0.16$ , respectively).

### ***Prediction Equations***

*Simple regression models.* The simple regression models developed to predict CH<sub>4</sub> emission by cattle in Latin America are given in Table 4. Charmley *et al.* (2016), Patra (2015) and IPCC (2006) developed similar models previously using data from cattle in other regions. In agreement with the largest correlation coefficients of DMI and GEI in Table 3 ( $r = 0.83$  and  $0.84$ , respectively), the models including each of DMI and GEI were related to the smallest BIC and AIC values (Table 4). However, the model that includes GEI had a smaller AIC and BIC compared to that of the model including DMI (AIC = 617 vs. 641 and BIC = 623 vs. 648, respectively). This indicates that better model fit with GEI

than DMI and agrees with previous observations by Charmley *et al.* (2016). The improved performance of model with GEI should be a result of a stronger relationship between organic matter intake, the substrate for CH<sub>4</sub> production, with GEI than its relationship with DMI. Next to those including DMI or GEI, the models including NDFi or digestible DMI (dDMI) explained well the data ( $r^2 = 0.78$  and  $0.74$ , AIC = 676 and 648, BIC = 683 and 654, respectively). Mills *et al.* (2003) and Ellis *et al.* (2007) reported similar success in models including those variables. On the contrary, model including MEI could not explain much of the variability in CH<sub>4</sub> production in the data ( $r^2 = 0.40$ ), which was in disagreement with some published literature. For example, Mills *et al.* (2003) found MEI to be a better predictor of CH<sub>4</sub> production even compared to DMI. The low performance of our simple regression model including MEI could be due to the fact that some ME values in our database were calculated from the table values when measured values were not reported. However, considering MEI as a predictor variable of CH<sub>4</sub> production could be impractical as one has to know beforehand how much CH<sub>4</sub> is produced for a given diet in order to calculate metabolizable energy concentration of the diet accurately. Ellis *et al.* (2007) found a smaller  $r^2$  (0.36) value when included MEI values from beef cattle into a dairy cattle dataset. This can also partially explain the small fit of model 1.3 (Table 4) because our data is dominated by information from beef cattle compared to dairy.

The RMSPE and CCC statistics of new models and extant models challenged on an independent dataset are given in Table 5. The observed vs. predicted value plots, and the residual error regressed against the predicted values are presented in Figure 3 and Figure 4, respectively. In consistent with the best performance observed with the data used for model development (e.g., the lowest AIC and BIC in Table 4), the simple regression model

including GEI (model 1.2 in Table 5) had the smallest average prediction error (RMSPE% =12.7%), about 88% of which was attributed to random variability of the data (ED = 88.1% in Table 5). Moreover, the model was associated with satisfactory CCC of 0.60. However, the model including DMI (model 1.1) had a greater CCC (0.91) than that of the model including GEI. Appuhamy *et al.* (2016) offers a method to develop one statistic combining both RMSPE% and CCC. As per that method, the model including GEI was still associated with better prediction performance than the model including DMI (data not shown). Overall, both models performed better than the IPCC (2006) model that had a greater RMSPE% (e. g., 32.0 vs. 12.7%) and a smaller CCC (e.g., 0.57 vs. 0.60). Close relationships between predicted values and independent CH<sub>4</sub> measurements (Figure 3), and residual error uniformly gathering around zero (Figure 4) indicate that the models (1.1. and 1.2) were parameterized well to represent the relationship of CH<sub>4</sub> emissions with DMI and GEI of cattle in Latin America. Therefore, the satisfactory performance of the new models collectively suggest a possibility to predict well the CH<sub>4</sub> emissions from Latin American cattle using new models. Charmley *et al.* (2016) and Patra (2015) developed 2 models based on only DMI using data from ruminants in tropical regions of the world. In the present study, the model developed by Charmley *et al.* (2016) had similar RMSPE% and CCC (Table 5) compared to the new model including only DMI. However, the model developed by Patra (2015) for the tropical regions of India had large RMSPE% value (31.3%) and a significant mean bias representing 21% of total prediction error (ECT% = 20.6%, Table 5). Other DMI-based models developed for North America (e. g., Ellis *et al.* 2009) and for Europe (e. g., Yan *et al.* 2009) had much greater RMSPE% (>40%) and smaller CCC (data not shown) than the new models. These findings highlight further the

necessity of developing specific models for the Latin America region. Nevertheless, it is important to acknowledge the difficulties in obtaining information on DMI and GE content of the diets in Latin American cattle production systems (e.g., grazing) that would markedly limit the application of the majority of new and extant models. Therefore, we developed a model (1.4 in Table 4) including BW as it could be more easily measured than feed intake. However, the model including BW did not fit to the data as good as the models including feed or nutrient intake (AIC and BIC > 700), and the predictions were associated with the largest RMSPE% of 38.5% among all the new models. However, poor performance of the BW-based model is in line with several other studies, which have demonstrated weak associations between CH<sub>4</sub> production and BW (Mills *et al.* 2003, Ellis *et al.* 2007).

*Multiple regression models.* We conducted multiple regression analyses to develop models with presumably greater predictive ability than the simple models following a procedure described in Santiago-Juarez *et al.* (2016) for cattle in North America. We used many combinations of 2 or more variables (Table 1) in developing those models. Only the models that had AIC and BIC similar to or smaller than those of the simple models are given in Table 6. Observed vs. predicted value plots, and the residual error plots of those models are presented in Figure 5 and 6, respectively.

The majority of the multiple regression models had smaller AIC and BIC compared to those of the simple models. Although addition of variables improves overall model fitting (e.g.,  $r^2$  value), AIC and BIC criteria penalize for model being complex. Therefore, models with small AIC and BIC values would be able to predict the response of interest accurately while being appropriately complex. The majority of the multiple regression models were

able to predict CH<sub>4</sub> emissions more close to the observed values compared to the simple models (Figure 3 vs. Figure 5). Moreover, the dispersion of residual error of multiple regression models (-50 to 50 g/d, Figure 6) was smaller than the error dispersion of the simple models (Figure 4). Addition of variables related to the amount of fiber intake (NDFi and ADFi) and diet digestibility (dDM and dOM) appear to improve model fitting while preserving the appropriate model complexity as indicated by decreasing BIC and AIC values (Table 4 and Table 6). Including the variables representing structural carbohydrates intake such as NDFi and ADFi (model 2.2) improved the fit in comparison with the model 1.2 based only on GEI (AIC = 604 and 597 vs. 617; Table 6). Some previous studies have also developed multiple linear regression models based on ADF and NDF intake (Ellis *et al.* 2009, Mills *et al.* 2003, Patra 2015) and shown to perform well for the other regions of the world (Appuhamy *et al.*, 2016). However, Patra (2015) found quadratic relationship of fiber intake with CH<sub>4</sub> emissions, which was not significant in our study (data not shown). Introducing variables explaining the digestibility of the diet (dOMi and dDM) into the models with intake variables (DMI and GEI) improved AIC and BIC even beyond the levels achieved with fiber intake-related variables (e.g., model 2.2 vs. model 2.4). When evaluated with the independent data, the model 2.4 including GEI and dDM performed overall the best as indicated by the smallest RMSPE% (12.1% in Table 7) with a tendency for slightly underpredicting the emissions ( $\mu=0.19$ ). This improvement with diet digestibility was not surprising because of the fact that CH<sub>4</sub> production is a result of fermentation of the digestible feed in the rumen (Ramin and Huhtanen, 2013). Consistently, Appuhamy *et al.* (2016) also found a prediction improvement when they modified an equation replacing total NDF with digestible NDF. So it is likely that the digestibility of

the NDF (e.g., apparent total tract digestibility of NDF) may be an important factor in explaining the variability of enteric CH<sub>4</sub> production and thereby predicting it. This is particularly true in regions, where there is a significant variability in forage types, and thus nutrient composition and digestibility. Moe and Tyrrell (1979) developed a model to explain this variability using variables such as non-structural carbohydrate intake (NSC), hemicellulose intake, and cellulose intake with markedly different digestibility. We developed model 2.6 (Table 6) including the same variables with the aim of parameterizing the Moe and Tyrrell (1979) model for Latin American cattle. However, it had the largest AIC and BIC values (Table 6), when fitted to Latin American data possibly indicating unwarranted model complexity. We were not able to evaluate the model with the independent data due to lack of information on NSC.

Model 2.5 with variables from three tiers in the hierarchy of candidate predictor variables (Santiago-Juarez *et al.*, 2016) including feed intake (e.g., GEI), nutrient composition (e.g., NDF content), and nutrient digestibility (dDM) had the best fit to the data used for model development (smallest AIC and BIC in Table 6). It had the second smallest RMSPE% (Table 7), when evaluated with the independent data overall indicating good prediction performance. Therefore, either model 2.4 or 2.5 could be recommended to predict CH<sub>4</sub> production in Latin America depending on availability of information on the diet composition such NDF and dDM in addition to DMI and GEI. When such information are not available, the simple linear models including only GEI or DMI would still predict accurately enteric CH<sub>4</sub> emissions from cattle in Latin America. Moreover, with respect to dairy cattle, Appuhamy *et al.* (2016 and 2017) demonstrated the possibility to estimate

accurately GEI and DMI using simple models with more routinely available information such as milk yield and BW, if measuring feed intake is challenging.

## CONCLUSIONS

Methane production by cattle in Latin America was highly variable and ranged from 50 to 400 g/d per head with an average of 200 g/d per head. This variation can be attributed to wide ranges in DMI (3.5 to 20 kg/d), digestibility of the diet and the amount of fiber consumed. The  $Y_m$  varied from 3.3 to 12.3% of GE intake with an average of 6.4%. Among simple linear regression models, a model including GE intake best predicted the methane emissions. Among the multiple regression models, the best prediction was achieved with models that included dry matter digestibility of the diet in addition to GE intake. All these new models performed better than extant models such as IPCC (2006). Therefore, the new models developed using data specific to the region should be used for preparing national greenhouse gas inventories and assessment of strategies to reduce CH<sub>4</sub> production in Latin American cattle.

## LITERATURE CITED

Andrade, E. A., E. X. Almeida, G. T. Raupp, M. F. Miguel, D. M. de Liz, P. C. F. Carvalho, C. Bayer and H. M. N. Ribeiro-Filho. Short communication: Herbage intake, methane emissions and animal performance of steers grazing dwarf elephant grass v. dwarf elephant grass and peanut pastures. *Animal*. 10:1684–1688. doi:10.1017/S1751731116000628.

Appuhamy, J. A. D. R. N, J. France and E. Kebreab. 2016. Models for predicting enteric methane emissions from dairy cows in North America, Europe, and Australia and New Zealand. *Global Change Biology*. 22(9):3039–3056. DOI: 10.1111/gcb.13339.



- Appuhamy, J. A. D. R. N., L. E. Moraes, C. Wagner-Riddle, D. P. Casper, and E. Kebreab. 2017. Predicting manure volatile solid output of lactating dairy cows. *J. dairy Sci.* (in press)
- Bárbaro, N., J. Gere, R. Gratton, R. Rubio and K. Williams. 2008. First measurements of methane emitted by grazing cattle of the Argentine a beef system. *New Zeal J Agr Res.* 51:209-219.
- Beauchemin, K. A., M. Kreuzer, F. O'Mara, and T. A. McAllister. 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian J. Expt. Agric.* 48:21-27.
- Bibby, J. and H. Toutenburg. 1977. Prediction and improved estimation in linear models. John Wiley & Sons, London, UK.
- Canesin, R. C., T. T. Berchielli, J. D. Messana, F. Baldi, A. V. Pires, R. T. S. Frighetto and R. A. Reis. 2014. Effects of supplementation frequency on the ruminal fermentation and enteric methane production of beef cattle grazing in tropical pastures. *Rev. Bras. Zootec.* 43:590-600.
- Canesin, R.C. 2009. Frequência da suplementação de bovinos da raça nelore mantidos em pastagens. PhD Diss. Universidade Estadual Paulista, faculdade de ciências agrárias e veterinárias, Jaboticabal.
- Castelán-Ortega, O. A., J. C. Ku-Vera and J. G. Estrada-Flores. 2014. Modeling methane emissions and methane inventories for cattle production systems in Mexico. *Atmósfera* 27:185-191.
- Charmley, E., S. R. O. Williams, P. J. Moate, R. S. Hegarty, R. M. Herd, V. H. Oddy, P. Reyenga, K. M. Staunton, A. Anderson and M. C. Hannah. 2016. A universal equation to

predict methane production of forage-fed cattle in Australia. *Animal Production Science*. 56:169–180. <http://dx.doi.org/10.1071/AN15365>.

Cota, O., D. de Figueiredo, R. Branco, E. Magnani, C. do Nascimento, L. de Oliveira and M. Mercadante. 2014. Methane emission by Nelore cattle subjected to different nutritional plans. *Trop. Anim. Health Prod.* 46:1229–1234.

Demarchi, J. A., A. J. Lourenc, M. Q. Manella, G. F. Alleoni, R. S. Friguetto, O. Primavesi and M. A. de Lima. 2003. Preliminary results on methane emission by Nelore cattle in Brazil grazing *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. In: The third international methane and nitrous oxide mitigation conference, Beijing, China, p. 80–84.

Demarchi, J. J. A. A., M. Q. Manella, O. Primavesi, R. T. S. Frighetto, L. A. Romero, A. Berndt and M. A. Lima. 2016. Effect of Seasons on Enteric Methane Emissions from Cattle Grazing *Urochloa brizantha*. *Journal of Agricultural Science*. 8 (4):106-115. Dini, Y., J. Gere, C. Briano, M. Manetti, P. Juliarena, V. Picasso, R. Gratton and L. Astigarraga. 2012. Methane emission and milk production of dairy cows grazing pastures rich in legumes or rich in grasses in Uruguay. *Animals*. 2:288–300.

Ellis, J. L., A. Bannink, J. France, E. Kebreab and J. Dijkstra. 2010. Evaluation of enteric methane prediction equations for dairy cows used in whole farm models. *Global Change Biology*. 16:3246-3256.

Ellis, J. L., E. Kebreab, N. E. Odongo, K. Beauchemin, S. McGinn, J. D. Nkrumah, S. S. Moore, R. Christopherson, G. K. Murdoch, B. W. McBride, E. K. Okine and J. France. 2009. Modeling methane production from beef cattle using linear and nonlinear approaches. *J. Anim. Sci.* 87:1334–1345.

- Ellis, J. L., E. Kebreab, N. E. Odongo, B. W. McBride, E. K. Okine and J. France. 2007. Prediction of methane production from dairy and beef cattle. *J. Dairy Sci.* 90:3456–3466.
- Fiorentini, G., I. P. C. Carvalho, J. D. Messana, P. S. Castagnino, A. Berndt, R. C. Canesin, R. T. S. Frighetto, and T. T. Berchielli. 2014. Effect of lipid sources with different fatty acid profiles on the intake, performance, and methane emissions of feedlot Nellore steers. *J. Anim. Sci.* 92:1613–1620.
- Gerber, P. J., A. N. Hristov, B. Henderson, H. Makkar, J. Oh, C. Lee, R. Meinen, F. Montes, T. Ott, J. Firkins, C. Dell Al Rotz, A. Adesogan, W. Z. Yang, J. Tricarico, E. Kebreab, G. Waghorn, J. Dijkstra, and S. Oosting. 2013. Technical options for the mitigation of direct methane and nitrous oxide emissions from livestock – A review. *Animal* 7 (Suppl. 2):220–234.
- Hristov, A. N., T. Ott, J. Tricarico, A. Rotz, G. Waghorn, A. Adesogan, J. Dijkstra, F. Montes, J. Oh, J. Firkins, E. Kebreab, S. Oosting, P. J. Gerber, B. Henderson, and H. P. S. Makkar. 2013. Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: III. A review of animal management-related mitigation options. *J. Anim. Sci.* 91:5095–5113.
- IPCC 2006. IPCC guidelines for national greenhouse gas inventories. (Institute for Global Environmental Strategies: Hayama, Japan).
- Johnson, K. A. and D. E. Johnson. 1995. Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 73:2483–2492.

Kebreab E, K. A. Johnson, S. L. Archibeque, D. Pape and T. Wirth. 2008. Model for estimating enteric methane emissions from United States dairy and feedlot cattle. *J Anim Sci.*86:2738-2748.

Menezes, A.C.B., S. C. Valadares-Filho, L. F. Costa e Silva, M. V. C. Pacheco, J. M. V. Pereira, P. P. Rotta, D. Zanetti, E. Detmann, F. A. S. Silva, L. A. Godoi and L. N. Rennó. 2016. Does a reduction in dietary crude protein content affect performance, nutrient requirements, nitrogen losses, and methane emissions in finishing Nellore bulls? *Agriculture, Ecosystems and Environment* 223: 239–249.

Mercadante, M. E. Z., A. P. M. Caliman, R. C. Canesin, S. F. M. Bonilha, A. Berndt, R. T. S. Frighetto, E. Magnani and R. H. Branco. 2015. Relationship between residual feed intake and enteric methane emission in Nellore cattle. *Rev. Bras. Zootec.* 44:255-262.

Mills, J. A. N., E. Kebreab, C. W. Yates, L. A. Crompton, S. B. Cammell, M. S. Dhanoa, R. E. Agnew and J. France. 2003. Alternative approaches to predicting methane emissions from dairy cows. *J. Anim. Sci.* 81:3143–3150.

Moe, P. W. and H. F. Tyrrell. 1979. Methane production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 62:1583–1586.

Molina, I. C., G. Donney, S. Montoya, J. E. Rivera, G. Villegas, J. Chará and R. Barahona. 2015. La inclusión de *Leucaena leucocephala* reduce la producción de metano de terneras Lucerna alimentadas con *Cynodon plectostachyus* y *Megathyrsus maximus*. *Livestock Research for Rural Development.* 27 (5).

- Molina, I. C., E. A. Angarita, O. L. Mayorga, J. Chará and R. Barahona. 2016. Effect of *Leucaena leucocephala* on methane production of Lucerna heifers fed a diet based on *Cynodon plectostachyus*. *Livestock Science* 185: 24–29.
- Montenegro, J., E. Barrantes-Guevara and N. DiLorenzo. 2016a. Methane emissions by beef cattle consuming hay of varying quality in the dry forest ecosystem of Costa Rica. *Livestock Science*. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2016.09.008>.
- Montenegro, J. and E. Barrantes-Guevara. 2016b. Implementación de la técnica del hexafluoruro de azufre para cuantificar metano entérico en bovinos en Costa Rica. *Trop J Environ Sci*. 50(2): 62-74.
- Moysés do Nascimento, C.F. 2007. Emissão de metano por bovinos Nelore ingerindo *Brachiaria brizantha* em diferentes estádios de maturação. PhD Diss. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. University of Sao Paulo.
- Muñoz, C., S. Hube, J. M. Morales, T. Yan and E. M. Ungerfeld. 2015. Effects of concentrate supplementation on enteric methane emissions and milk production of grazing dairy cows. *Livestock Science*. 175:37–46.
- Neto, G. B., A. Berndt, J. R. Nogueira, J. J. A. A. Demarchi and J. C. Nogueira. 2009. Monensin and protein supplements on methane production and rumen protozoa in bovine fed low quality forage. *South African Journal of Animal Science*. 39 (Supplement 1): 280-283.
- Normand, S. L. 1999. Meta-analysis: formulating, evaluating, combining, and reporting. *Stat Med*. 18:321-359.

NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

Oliveira, L. F., A. C. Ruggieri, R. H. Branco, O. L. Cota, R. C. Canesin, H. J. U. Costa and M. E. Z. Mercadante. 2016. Feed efficiency and enteric methane production of Nellore cattle in the feedlot and on pasture. Anim. Prod. Sci. <http://dx.doi.org/10.1071/AN16303>.

Oliveira, S. G., T. T. Berchielli, M. S. Pedreira, O. Primavesi, R. Frighetto and M. A. Lima. 2007. Effect of tannin levels in sorghum silage and concentrate supplementation on apparent digestibility and methane emissions in beef cattle. Animal Feed Science and Technology. 135:236-248.

Patra, A. K. 2015. Prediction of enteric methane emission from cattle using linear and non-linear statistical models in tropical production systems. Mitig. Adapt. Strateg. Glob. Change. DOI 10.1007/s11027-015-9691-7.

Pedreira, S. M., T. T. Berchielli, S. G. Oliveira, O. Primavesi, M. A. de Lima and R. Frighetto. 2004. Produção de metano e concentração de ácidos graxos voláteis ruminal em bovinos alimentados com diferentes relações de volumoso:concentrado. In: 41ª Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, Campo Grande, MS. NR 371:1-5.

Pedreira, S. M., O. Primavesi, M. A. de Lima, R. Frighetto, S. G. Oliveira and T. T. Berchielli. 2009. Ruminant methane emission by dairy cattle in southeast Brazil. Scientific Agriculture (Piracicaba, Braz.). 66:742–750.

Pedreira, S. M., T. T. Berchielli, O. Primavesi, S. G. Oliveira, R. Frighetto and M. A. de Lima. 2012. Influence of different supplements and sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) cultivars on intake, digestible variables and methane production of dairy heifers under

tropical conditions. *Trop Anim Health Prod.* 44:1773–1778. DOI 10.1007/s11250-012-0136-y.

Possenti, R. A., R. Franzolin, E. A. Schammas, J. J. Demarchi, R. T. S. Frighetto and M. A. Lima. 2008. Efeitos de dietas contendo *Leucaena leucocephala* e *Saccharomyces cerevisiae* sobre a fermentação ruminale a emissão de gás metano em bovinos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37:1509-1516.

Primavesi, O, R. T. Shiraishi, M. Dos Santos, M. Aparecida, T. Teresinha and P. Franklin. 2004. Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 39 (3): 277-283.

Ramin, M. and Huhtanen, P., 2013. Development of equations for predicting methane emissions from ruminants. *J. Dairy Sci.* 96, 2476–2493.

Santiago-Juarez, B., L. E. Moraes, J. A. D. R. N. Appuhamy, W. F. Pellikaan, D. P. Casper, J. Tricarico and E. Kebreab. 2016. Prediction and evaluation of enteric methane emissions from lactating dairy cows using different levels of covariate information. *Animal Production Science.* 56:557–564. <http://dx.doi.org/10.1071/AN15496>.

St-Pierre, N.R., 2001. Invited review: integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. *J. Dairy Sci.* 84, 741–755.

Theil, H., 1966. *Applied Economic Forecasting*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam.

Yan, T., M. G. Porter and C. S. Mayne. 2009. Prediction of methane emission from beef cattle using data measured in indirect open-circuit respiration calorimeters. *Animal* 3, 1455–1462.



Table 1: A summary of data used for developing models

Variable <sup>1</sup>	n	Mean	SD	Min	Max
Animal Characteristics					
BW (kg)	68	403	105	215	642
BW <sup>0.75</sup> (kg)	68	89.3	17.7	56.1	128
Dietary nutrient composition					
DM (%)	52	46.6	24.9	17.5	93.4
GE (MJ/DM kg)	66	16.9	1.3	10.9	19.2
ME (MJ/DM kg)	43	8.1	2.3	5.1	12.2
CP (DM %)	69	12.5	4.5	3.3	21.1
EE (DM %)	62	1.2	0.77	0.6	2.4
NDF (DM %)	69	54.5	12.3	32.2	84.2
ADF (DM %)	69	29.3	8.3	12.0	51.9
HEM (DM %)	69	24.6	5.4	12.4	36.1
CEL (DM %)	61	24.6	7.5	10.0	43.6
LIG (DM %)	61	4.5	2.1	0.6	8.4
Ash (DM %)	63	7.5	2.3	3.7	12.5
NsCh (DM %)	63	23.5	11.3	1.0	48.3
dDM (DM %)	64	61.2	11.1	33.3	85.3
dOM (DM %)	66	58.1	14.3	25.3	87.8
Nutrient intake					
DMI (kg/d)	69	10	4.1	3.5	20.1
GEI (MJ/d)	63	173	69.6	64	339
MEi (MJ/d)	42	79.9	23.8	40.4	147
CPi (kg/d)	69	1.4	0.97	0.2	4.2
EEi (kg/d)	60	0.15	0.16	0.04	0.46
NDFi (kg/d)	69	5.2	1.9	1.97	10
ADFi (kg/d)	69	2.8	1.0	0.7	5.8
Hem-i (kg/d)	69	2.5	0.99	0.99	4.51
CELi (kg/d)	61	2.4	0.95	0.58	4.7
LIGi (kg/d)	61	0.41	0.2	0.1	1
NsChi (kg/d)	63	2.43	1.44	0.08	6.23
dDMi (kg/d)	64	6.52	3.42	2.21	17
Methane production					
CH <sub>4</sub> (g/d)	69	200	92.4	49.3	403
CH <sub>4</sub> (g/kg of DMI)	69	19.6	5.4	9.2	40.2
Y <sub>m</sub> (% of GEI)	66	6.4	1.74	3.3	12.3

<sup>1</sup>BW= live body weight, BW<sup>0.75</sup>=metabolic body weight, DM= dry matter, GE= gross energy, EE=ether extract, NDF=neutral detergent fiber, ADF= acid detergent fiber, Hem= hemicelluloses, CEL= cellulose, LIG= lignin, NsCh= non-structural carbohydrates, dDM= digestibility of the dry matter, dOM= digestibility of the organic matter, DMI= dry matter intake, GEI= gross energy intake, MEI= metabolizable energy intake, CPi= crude protein intake, EEi= ether extract intake,

NDFi= neutral detergent fiber intake, ADFi= acid detergent fiber intake, Hem-i= hemicellulose intake, CELi=cellulose intake, LEGi=lignin intake, NsChi= non-structural carbohydrates intake, dDMI= digestible dry mater intake, Ym= percentage of the GEI converted into methane.

Table 2: A summary of the independent data used for evaluating models

Variable <sup>1</sup>	n	Mean	S.D.	Min	Max
Animal Characteristics					
BW (kg)	41	433	160	119	593
BW <sup>0.75</sup> (kg)	41	93.5	27.7	36	120
Dietary nutrient composition					
CP (DM %)	41	12.5	3.38	3.33	17
GE (MJ/DM kg)	4	4.25	0.10	4.16	4.34
OM (MJ/DM kg)	13	70.9	39.9	0.90	95.3
NDF (DM %)	41	52.7	10.9	44.3	82.5
ADF (DM %)	41	33	5.66	22.9	51.4
LIG (DM %)	38	7.49	2.49	1.33	9.6
CEL (DM %)	32	23.6	2.13	19.1	28.5
HEM (DM %)	32	16.5	4.82	13.8	30.4
dDM (DM %)	25	53.5	17.1	0.61	63.8
Ash(DM %)	13	8.08	2.17	4.7	11.5
Nutrients intake					
DMI (kg/d)	48	11.9	6.36	3.45	26.5
GEI (MJ/d)	18	118	56.6	25.9	202
NDFi (kg/d)	41	6.27	2.97	1.53	13.1
ADFi (kg/d)	41	4.08	2.21	1.01	9.44
dDMi (kg/d)	25	7.84	4.0	1.4	16.7
Methane production					
CH <sub>4</sub> (g/d)	48	271	148	95.9	564
CH <sub>4</sub> (g/kg DMI)	48	23.6	7.7	11.4	46.4
Ym (% of GEI)	18	7.05	1.89	4.71	13.3

<sup>1</sup>BW= live body weight, BW<sup>0.75</sup>=metabolic body weight, GE= gross energy, NDF=neutral detergent fiber, ADF= acid detergent fiber, HEM= hemicellulose, CEL= cellulose, LIG= lignin, dDM= digestibility of the dry matter, DMI= dry matter intake, GEI= gross energy intake, NDFi= neutral detergent fiber intake, ADFi= acid detergent fiber intake, dDMI= digestible dry mater intake, Ym= percentage of the GEI converted into methane.

Table 3: Pearson's correlation coefficients (r) between dietary and animal variables with methane production.

Variable <sup>1</sup>	n	R	P value
Animal characteristics			
BW (kg)	68	0.77	<0.0001
BW <sup>0.75</sup> (kg)	68	0.77	<0.0001
Dietary nutrient composition			
DM (%)	52	-0.50	0.0002
GE (MJ/kg)	66	0.19	NS
ME (MJ/kg)	43	-0.53	0.0003
CP (%)	69	0.46	<0.0001
EE (%)	62	0.16	NS
NDF (%)	69	-0.25	0.0380
ADF (%)	69	-0.24	0.0460
Hem (%)	69	-0.19	NS
CEL (%)	61	-0.18	NS
LIG (%)	61	-0.33	0.0093
Ash (%)	63	0.35	0.0048
NsCh (%)	63	-0.04	NS
dDM (%)	64	0.16	NS
dOM (%)	66	0.09	NS
Nutrient intake			
DMI (kg/d)	69	0.83	<0.0001
GEI (MJ/d)	66	0.84	<0.0001
MEI (MJ/d)	43	0.29	0.0623
CPi (kg/d)	69	0.32	<0.0001
EEi (kg/d)	62	-0.43	<0.0001
NDFi (kg/d)	69	0.73	<0.0001
ADFi (kg/d)	69	0.66	<0.0001
HEMi (kg/d)	69	0.73	<0.0001
CELi (kg/d)	61	0.82	<0.0001
LIGi (kg/d)	61	0.29	0.0252
NsChi (kg/d)	63	0.57	<0.0001
dDMi (kg/d)	64	0.75	<0.0001

<sup>1</sup>BW= body weight, BW<sup>0.75</sup>=metabolic weight, DM= dry matter, GE= gross energy, EE=ether extract, NDF=neutral detergent fiber, ADF= acid detergent fiber, Hem= hemicellulose, CEL= cellulose, LIG= lignin, NsCh= non-structural carbohydrates, dDM= digestibility of the dry matter, dOM= digestibility of the organic matter, DMI= dry matter intake, GEI= gross energy intake, MEI= metabolizable energy intake, CPi= crude protein intake, EEi= ether extract intake, NDFi= neutral detergent fiber intake, ADFi= acid detergent fiber intake, Hem-i= hemicellulose intake, CELi=cellulose intake, LIGi=lignin intake, NsChi= non-structural carbohydrates intake, dDMI= digestible dry mater intake, NS=non-significant at  $P>0.05$ .

Table 4: Simple regression models developed to predict methane production by cattle in Latin America and some extant models.

	Model	variables and parameter estimates <sup>1</sup>	r <sup>2</sup>	AIC	BIC
New models	1.1	CH <sub>4</sub> (g/d) = 1.85 (±11.5) + 20.6 (±1.06) × DMI (kg/d)	0.85	641	648
	1.2	CH <sub>4</sub> (g/d) = 2.7 (±12.6) + 1.16 (±0.07) × GEI (MJ/d)	0.83	617	623
	1.3	CH <sub>4</sub> (g/d) = 100 (±15.7) + 1.12 (±0.14) × MEI (MJ/d)	0.49	733	739
	1.4	CH <sub>4</sub> (g/d) = -70.5 (±29.2) + 0.68 (±0.07) × BW (kg)	0.58	719	725
	1.5	CH <sub>4</sub> (g/d) = -14.3 (±15) + 39.6 (±2.65) × NDFi (kg/d)	0.78	676	683
	1.6	CH <sub>4</sub> (g/d) = 57.54 (±12.6) + 21.4 (±1.64) × dDMI (kg/d)	0.74	648	654
	1.7	CH <sub>4</sub> (g/d) = 4.5 (±15.5) + 68.9 (±5.18) × ADFi (kg/d)	0.73	688	695
Extant models	IPCC (2006)	CH <sub>4</sub> (MJ/d) = 0.065 (±0.00) × GEI (MJ/d)			
	Charmley <i>et al.</i> (2016)	CH <sub>4</sub> (g/d) = 20.7 (±0.28) × DMI (kg/d)			
	Patra (2015)	CH <sub>4</sub> (MJ/d) = 1.29 (±0.71) + 0.88(±0.13) × DMI (kg/d)			

<sup>1</sup>DMI= dry matter intake, GEI= gross energy intake, MEI= metabolizable energy intake, BW= body weight. NDFi=neutral detergent fiber intake, ADFi= acid detergent fiber intake, dDMI= digestible dry mater intake

Table 5: Evaluation of new simple regression models, and extant models using an independent data set<sup>1</sup>

	Model number	RMSPE%	ECT%	ER%	ED%	CCC	Cb	r	$\mu$
New models	1.1	25.1	1.1	0.00	98.9	0.91	0.99	0.91	0.044
	1.2	12.7	2.39	9.49	88.1	0.60	0.84	0.72	0.008
	1.3	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.4	38.5	37	1.1	61.9	0.67	0.84	0.8	0.536
	1.5	36.1	9.6	1.9	88.5	0.81	0.94	0.85	0.229
	1.6	38.2	58.2	6.93	34.9	0.57	0.68	0.85	0.85
	1.7	27.1	0.00	0.2	99.8	0.9	0.99	0.90	-0.006
Extant Models	IPCC (2006)	32	0.01	81.2	18.8	0.57	0.80	0.72	0.280
	Charmley <i>et al.</i> (2016)	25.2	1.3	0.1	98.6	0.91	0.99	0.91	0.047
	Patra (2015)	31.3	20.6	17.3	62.1	0.83	0.91	0.81	0.267

<sup>1</sup>RMSPE%= root squared mean prediction error as a percentage of observed mean, ECT= error due to deviation of the regression slope from unity, ER= error due to overall bias, ED= random error, CCC = concordance correlation coefficient, Cb= bias correction factor, r= Pearson's correlation coefficient,  $\mu$ = Provides a measure of location shift (positive  $\mu$  indicates underprediction and negative  $\mu$  value indicates overprediction)

Table 6: Multiple regression models developed to predict methane production by cattle in Latin America.

	Model number	Model	r <sup>2</sup>	AIC	BIC
New models	2.1	CH <sub>4</sub> (g/d) = -20.3 (±11.9) + 0.7 (±0.12) x GEI (MJ/d) + 18.1 (±4.24) x NDFi (kg/d)	0.87	604	618
	2.2	CH <sub>4</sub> (g/d) = -20 (±11) + 0.72 (±0.1) x GEI (MJ/d) + 32.5 (±6.19) x ADFi (kg/d)	0.88	597	607
	2.3	CH <sub>4</sub> (g/d) = 1.12 (±1.19) + 18.4 (±1.93) x DMI (Kg/d) + 2.11 (±2.27) x dOMi (kg/d)	0.85	603	623
	2.4	CH <sub>4</sub> (g/d) = 31.1 (±27.5) + 1.19 (±0.07) x GEI (MJ/d) - 0.6 (±0.45) x dDM (%)	0.84	586	599
	2.5	CH <sub>4</sub> (g/d) = - 88.9 (±52.8) + 1.19 (±0.09) x GEI (MJ/d) + 1.53 (±0.47) x NDF (%) - 0.05 (±0.5) x dDM (%)	0.79	521	531
	2.6	CH <sub>4</sub> (g/d) = - 31.2 (±16.8)+ 21.7 (±4.36) x NsCh (kg/d) + 19.9 (±10) x HEMi (kg/d)+ 56.5 (±10.2) x CELi (kg/d)	0.80	643	654
Extant model	Moe and Tyrrell 1979	CH <sub>4</sub> (MJ/d) = 0.34 + 0.51 x NSCh (Kg/d) + 1.74 x HEMi (kg/d)+ 2.65 x CELi(kg/d)			

GEI= Gross energy intake, DMI= dry matter intake, NDFi= neutral detergent fiber intake, ADFi= acid detergent fiber intake, dOMi= Digestible organic matter intake, dDM= Dry matter digestibility, HEMi= hemicellulose intake, CELi=cellulose intake, NsChi= non-structural carbohydrates intake.

1

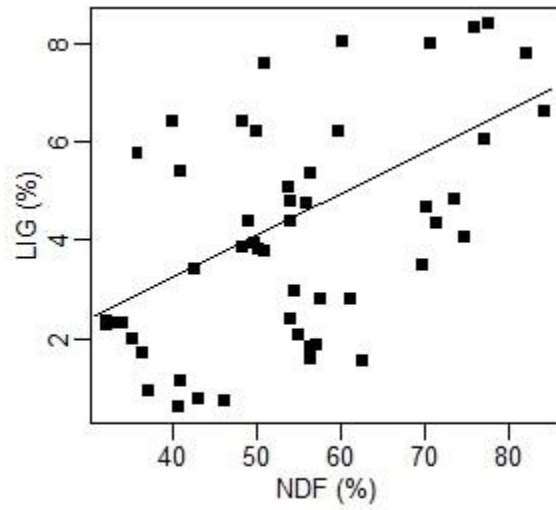
2 Table 7: Evaluation of multiple regression models developed in this study<sup>1</sup>

	Model number	RMSPE%	ECT%	ER%	ED%	CCC	Cb	R	$\mu$
New models	2.1	24.3	5.21	4.22	90.6	0.72	0.96	0.74	0.16
	2.2	28.5	4.2	58.8	37	0.66	0.93	0.72	0.16
	2.3	27.8	2.98	2.78	94.2	0.77	0.99	0.79	-0.12
	2.4	12.1	18.9	43.2	37.9	0.57	0.97	0.58	0.19
	2.5	13.6	19.8	44.4	35.8	0.54	0.94	0.58	-0.37
	2.6	-	-	-	-	-	-	-	-

3 <sup>1</sup>RMSPE%= root squared mean prediction error as a percentage of observed mean, ECT=  
4 error due to deviation of the regression slope from unity, ER= error due to overall bias,  
5 ED= random error, CCC = concordance correlation coefficient, Cb= bias correction factor,  
6 r= Pearson's correlation coefficient.

7

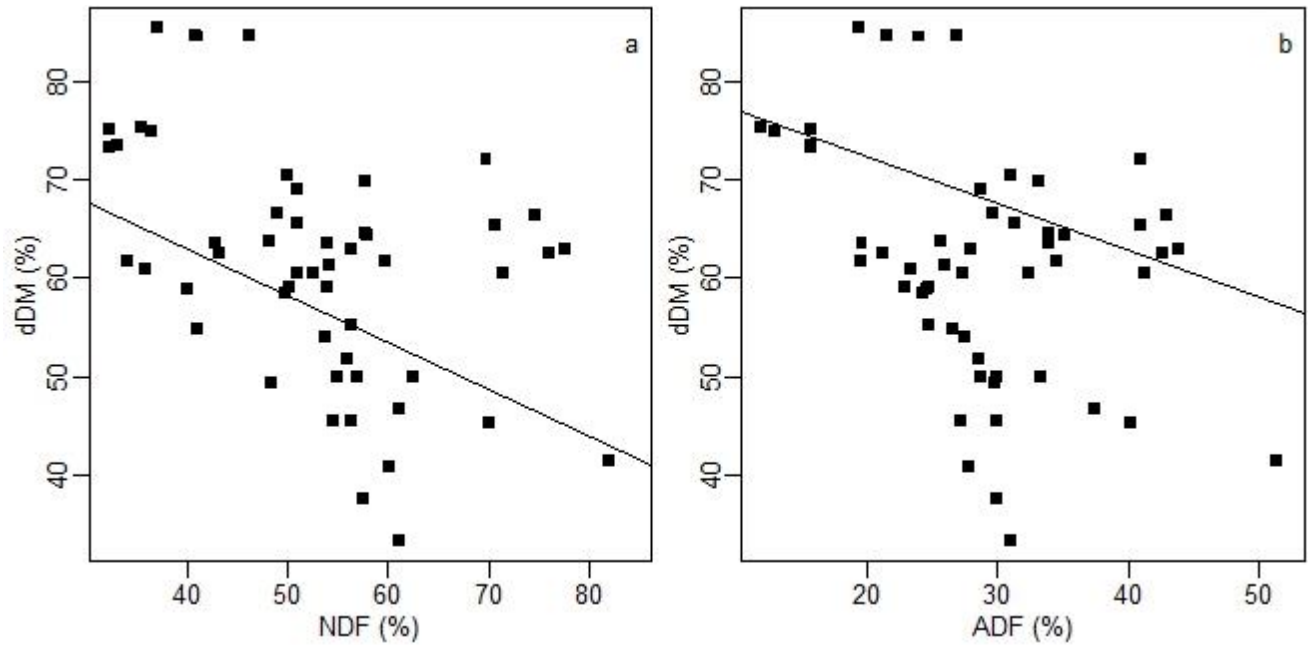
8



9

10 Figure 1: Relationship between neutral detergent fiber (NDF) content in the diet and the  
11 percentage of lignin (LIG).

12

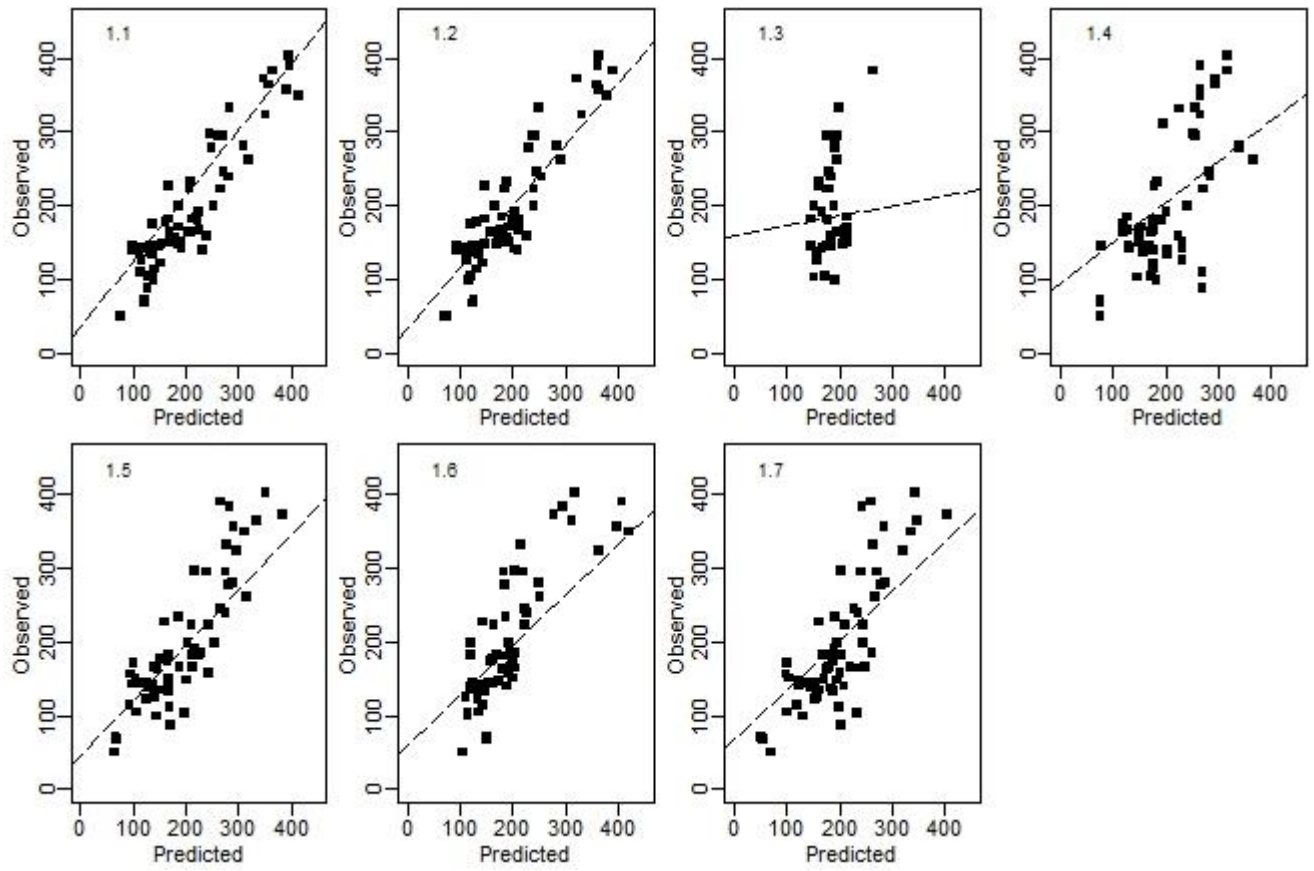


13

14 Figure 2: Relationship between the percentage of NDF (a) and ADF (b) on the digestibility  
15 of the dry matter for all the diets included in the analysis.

16

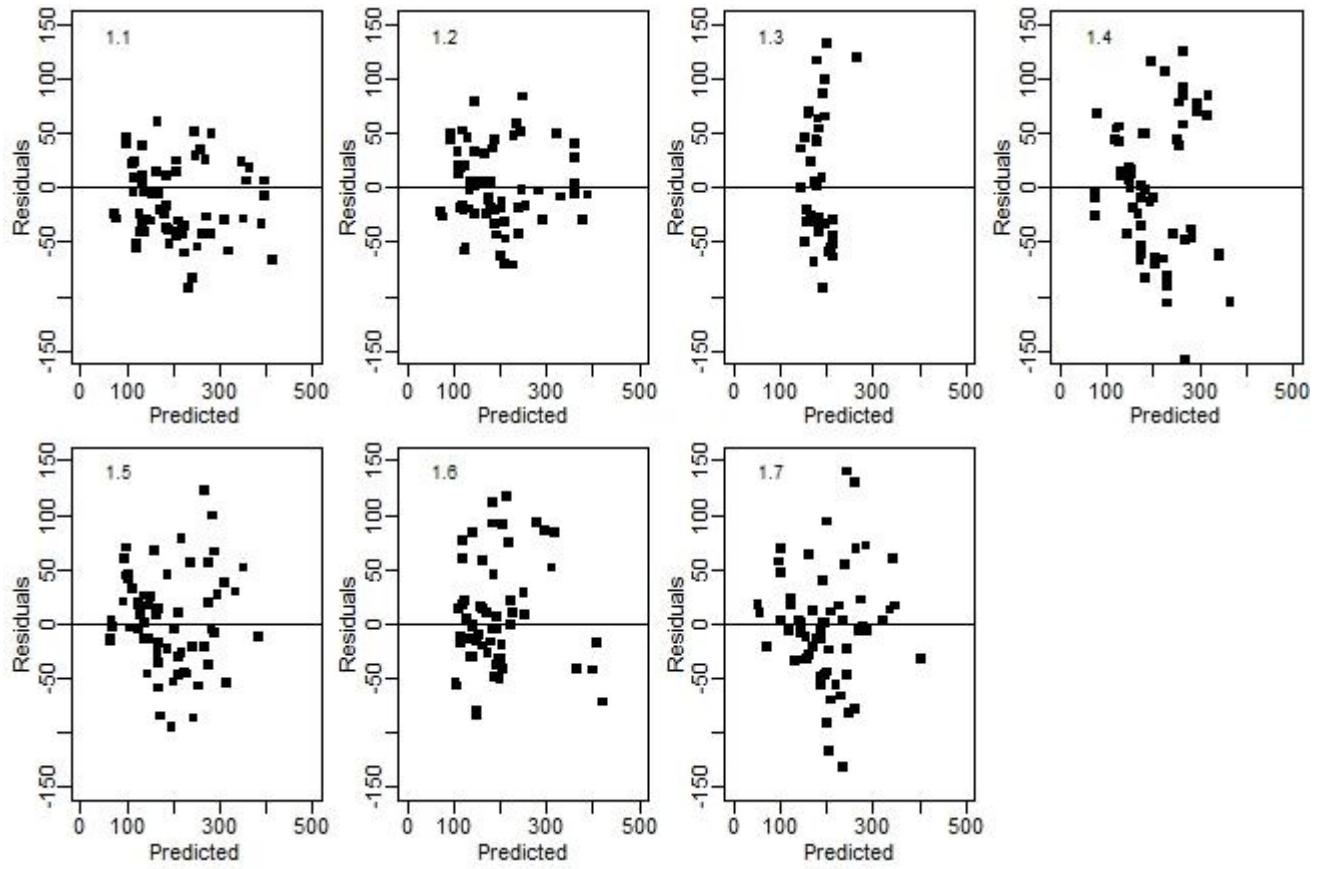




17

18

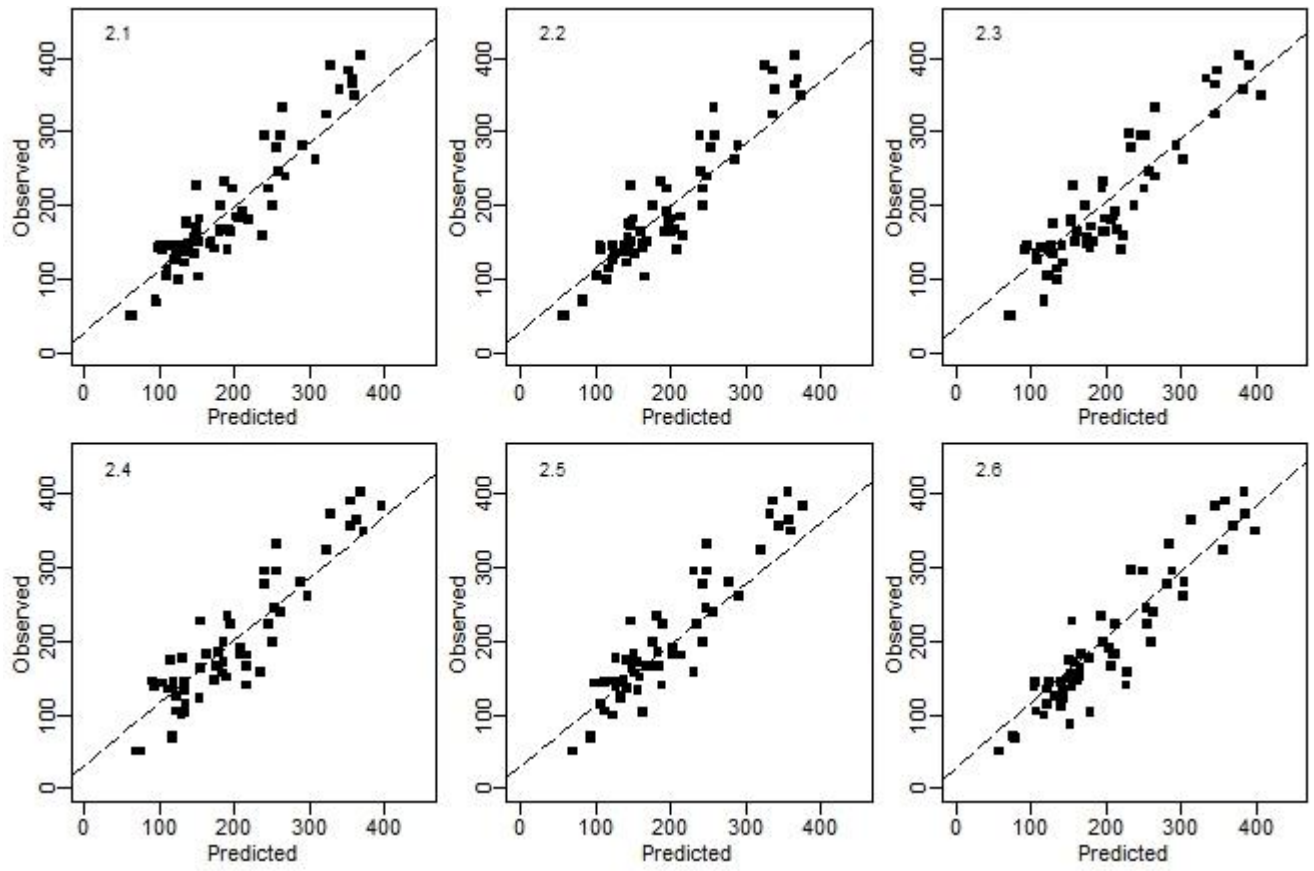
19 Figure 3: Observed versus predicted plot of simple regression models using the database  
 20 in Table 1.



21

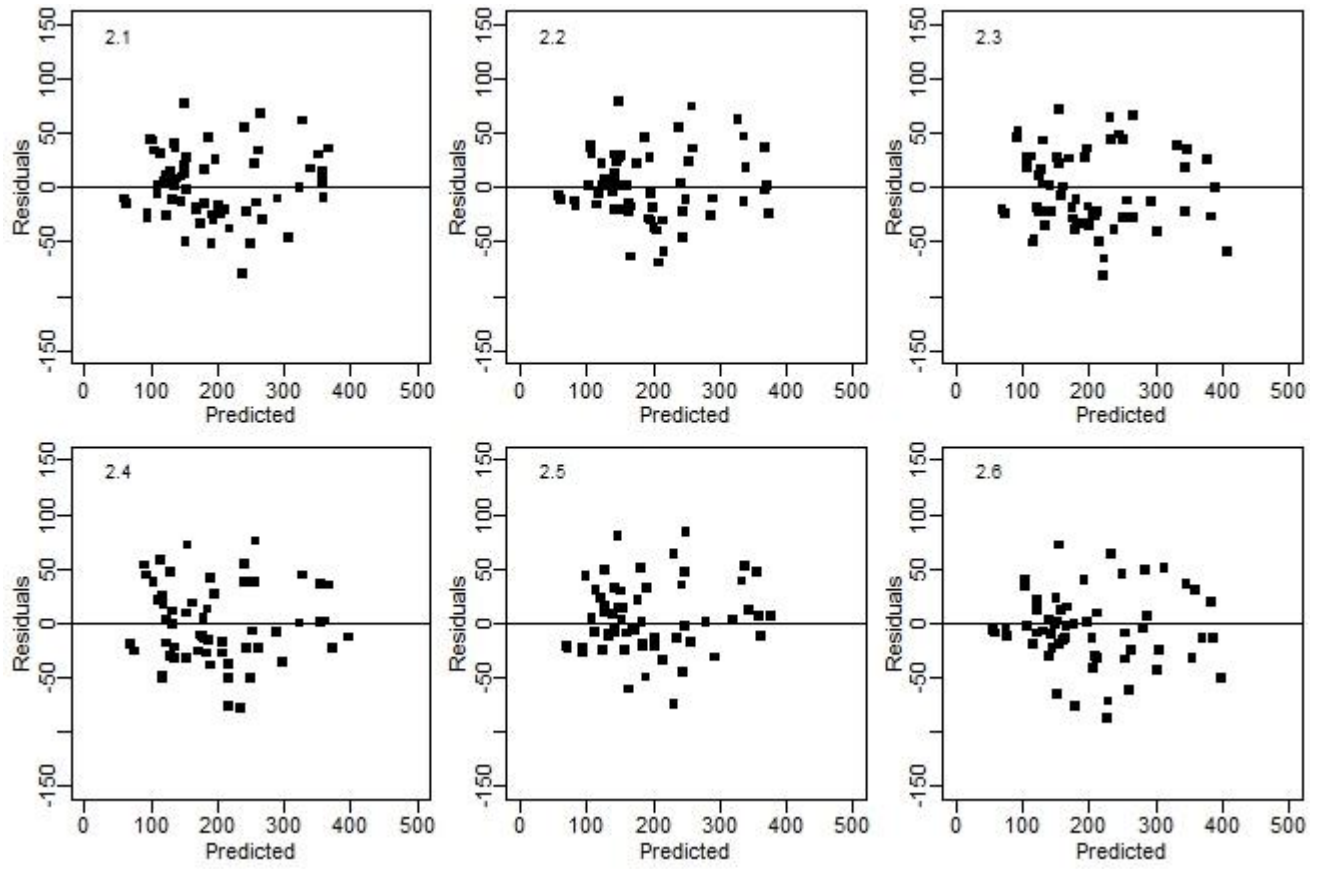
22

23 Figure 4: Residual error versus predicted plots of simple regression models using the  
24 database in Table 1.



25

26 Figure 5: Observed versus predicted plot of multiple regression models using the  
27 database in Table 1.



28

29 Figure 6: Residual error versus predicted plots of multiple regression models using the  
30 database in Table 1.

31

### **7.3. TERCER CAPÍTULO**

# **EFFECTO DE LA FIBRA DETERGENTE NEUTRO EN LA EMISIÓN DE METANO, DIGESTIBILIDAD Y PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LA LECHE**

Benaouda M\*, González Ronquillo M, Apodaca-Martínez G y Castelán Ortega OA.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México

## **Resumen**

Es sabido que la emisión de metano entérico ( $\text{CH}_4$ ) por las vacas lecheras aumenta con el aumento del contenido de fibra en la dieta. Sin embargo, esta relación lineal positiva puede no funcionar en algunas regiones tropicales del mundo donde la fibra dietética es alta y tiene una baja calidad, lo que podría reducir el consumo de materia seca (CMS) y digestibilidad. Este estudio tiene como objetivo evaluar el efecto del aumento en los niveles de fibra dietética (FDN) y su digestibilidad en el CMS, la digestibilidad, la producción de leche y su composición y en la producción de  $\text{CH}_4$  en vacas lecheras. Ocho vacas Holstein ( $112 \pm 38$  días después del parto; medias  $\pm$  S.D.) se asignaron aleatoriamente a cuatro tratamientos de cuatro niveles de FDN: 40,2, 43,3, 46,5 y 50,5%, en un diseño experimental cuadrado latino repetido  $4 \times 4 \times 2$ , de 21 días cada período. Las vacas fueron alimentadas con un ración mezclada basada en ensilado de maíz y alfalfa y concentrado (en una proporción forraje:concentrado de 60:40). Para alcanzar los niveles de FDN planteados, parte del ensilado fue reemplazado por rastrojo de maíz, sin afectar la proporción forraje:concentrado. Durante los primeros 14 días de cada periodo, las vacas fueron adaptadas a las dietas en establos individuales. Después, las vacas fueron trasladadas a las cámaras de respiración donde se midió el CMS, la digestibilidad de los nutrientes, la leche y la producción de  $\text{CH}_4$ . No se detectó efecto del incremento de FDN en CMS y la producción de leche; Sin embargo, el rendimiento en  $\text{CH}_4$  (l/Kg MSI) disminuyó ( $P < 0,0001$ ) con el aumento de FDN (32,1, 28,1, 23,1 y 21,2 l/kg DMI, respectivamente). El

contenido de grasa de la leche fue mayor en las vacas en comparación con el nivel de FDN más bajo (3,96 frente a 3,59, respectivamente). Se encontró que la digestibilidad de la materia seca disminuye con el aumento de la de la inclusión de rastrojo de maíz en la dieta (73.6, 66.4, 62 y 58.5, respectivamente). La digestibilidad de FDN explicó mejor ( $P < 0.0001$ ) la variabilidad de  $CH_4$  que la digestibilidad de MS (coeficiente de Pearson = 0.89 vs. 0.54, respectivamente). De este trabajo se concluye que a mayor concentración de FDN en la dieta de vacas lecheras, menor digestibilidad de la materia seca y de la fibra, lo cual resulta en menor sustrato digestible en el rumen y por consecuencia la emisión de metano se disminuye.

### **Abstract**

It is known that enteric methane emission ( $CH_4$ ) by dairy cows increase as fiber content of diet increase. However, this positive lineal relationship may not work in some tropical regions of the world where dietary fiber is too high and has low quality, which may reduce dry matter intake (DMI) and digestibility. This study is aimed to evaluate the effect of increasing dietary fiber levels (more than 40% of neutral detergent fiber; NDF) and its digestibility on DMI, digestibility, milk production and composition and  $CH_4$  emission from lactating dairy cows. Eight Holstein cows ( $112 \pm 38$  days postpartum; mean  $\pm$  s.d.) were randomly assigned to four treatments of four dietary NDF levels: 40.2, 43.3, 46.5 and 50.5%, in a 4x4x2 Latin square experimental design of 21-days periods. Cows were fed a TMR of corn-alfalfa silage and concentrate (60:40, forrage:concentrate ratio). To reach increasing contents of NDF, part of silage was replaced with corn straw. During 14 days of each period, cows were adapted to diet in individual pens and then moved to open-circuit respiration chambers on day 20 where DMI, nutrient digestibility, milk and  $CH_4$  production

were measured. No effect of NDF was detected on DMI and milk production; however, CH<sub>4</sub> production and CH<sub>4</sub> yield decreased ( $P < 0.0001$ ) as NDF increased (421, 409, 362 and 336 l/day and 32.1, 28.1, 23.1 and 21.3 l/kg DMI, respectively). Fat content of milk was greater in cows fed higher fiber compared with lower fiber (3.95 vs. 3.65, respectively,  $P$  valor = 0.03). Decreasing DM digestibility was found as NDF increased (73.6, 66.4, 62 and 58.5, respectively). NDF digestibility explained better ( $P < 0.0001$ ) CH<sub>4</sub> variability than DM digestibility (pearson coefficient = 0.89 vs. 0.54, respectively). It was concluded that increasing fiber content in dairy cows diets in Mexico reduced DM and fiber digestibility, which resulted in less digestible substrate in rumen and hence CH<sub>4</sub> emission decreases.

**Palabras claves:** Fibra, metano, digestibilidad, leche.

## **Introducción**

La cantidad de metano entérico (CH<sub>4</sub>) producido por un rumiante está influenciada por diversos factores; dietéticos (Charmley *et al.*, 2016; Hammond *et al.*, 2014; Piñeiro-Vázquez *et al.*, 2017), animales (Nkrumah *et al.*, 2006) y medio ambientales (McAllister *et al.*, 1996). Uno de los factores relacionados con la dieta que afectan la producción de CH<sub>4</sub> es su contenido en fibra. Su importancia como predictor de CH<sub>4</sub> fue destacada por primera vez por Moe y Tyrrell en 1979 con un modelo empírico que incluye como variables las diferentes partes de la fibra:  $[CH_4 \text{ (MJ/d)} = 3.38 + 0.51 * \text{Carbohidratos no fibrosos} + 2.14 * \text{Hemicelulosa} + 2.65 * \text{Celulosa}]$ . Estudios posteriores empezaron a utilizar la fibra dietética para explicar y predecir la formación y emisión de metano tanto en ovino (Ramin y Huhtanen, 2013) como en vacuno (Ellis *et al.*, 2007 y 2009). Estos trabajos sugieren que un contenido mayor de la fibra en la dieta está asociado a mayor pérdida de energía en



forma de CH<sub>4</sub> (Archimède *et al.*, 2011). Bajo este razonamiento, esa pérdida sería más alta en las regiones de clima tropical pues los forrajes de estas regiones del mundo son altos en fibra (Kennedy y Charmley, 2012). Sin embargo, las primeras mediciones en México de CH<sub>4</sub> entérico en ganado bovino mediante cámaras de respiración han encontrado que las vacas en zona tropical, comiendo dietas de baja calidad (Digestibilidad = 50% y FDN > 70%; Piñeiro-Vázquez *et al.*, 2017) pierden menos energía en forma de CH<sub>4</sub> (Y<sub>m</sub> = 4.92%) que las vacas en clima templado del país que reciben dietas de alta calidad (digestibilidad = 68%, FDN = 34% and Y<sub>m</sub> = 8.7%; Pedraza-Baltrán *et al.* 2016). Este resultado no coincide con los modelos de predicción de CH<sub>4</sub> existentes como el de Moe y Tyrrell (1979) ya que se esperaría mayor emisión de metano en el trópico, tal diferencia se debe probablemente a que dichos modelos fueron elaborados a partir de dietas experimentales de regiones de clima templado cuyo contenido en fibra varía en un pequeño rango cercano a lo recomendado por diferentes sistemas de alimentación, como el NRC (FDN entre 25 y 35% para ganado lechero). En consecuencia, la precisión predictiva de la emisión de CH<sub>4</sub> podría verse comprometida fuera de ese rango específicamente cuando los forrajes son de baja calidad. De otro lado, es sabido que la fibra en la ración de ganado de leche, sí bien es un componente fundamental, es también un factor limitante para la capacidad de ingesta y la digestibilidad del alimento (Allen y Piantoni, 2014). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de niveles crecientes de fibra en una dieta de ganado de lechero mayores a lo recomendado en el NRC sobre 1) el consumo y la digestibilidad del alimento, 2) producción de leche, 3) emisión de metano y 4) el balance energético y proteico.

## **Materiales y Métodos**

Los animales fueron tratados de acuerdo a las directrices de experimentación con animales de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México.

### *Localización*

El trabajo se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Ganadería, Medio Ambiente y Energías Renovables ubicado en La Posta Zootécnica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca (19.41° Norte y 99.68° Oeste, 2600msnm), entre los meses de Mayo y Septiembre 2016.

### *Animales y tratamientos*

Ocho vacas primíparas de raza Holstein fueron utilizadas. Al inicio del experimento, los animales estaban en el día  $112 \pm 38$  postparto (media  $\pm$  desviación estándar), tenían un peso vivo (PV) de  $443 \pm 28$  y producían  $15.8 \pm 3.2$  l/d de leche. Las vacas fueron agrupadas en un diseño de cuadrado latino 4x4 repetido dos veces, para probar 4 dietas experimentales con niveles crecientes de fibra detergente neutro (% FDN): Dieta A = 40.2%, dieta B = 43.3%, dieta C = 46.5% y dieta D = 50.5%. Los ingredientes que componen las dietas y la composición química de las mismas están presentados en la Tabla 1. La relación forraje/concentrado de las dietas fue de 65/35 en promedio para todos los tratamientos. Todas las dietas fueron preparadas diariamente y la dieta A que representa el nivel de FDN más bajo, contenía ensilado mixto de maíz/alfalfa (50/50%) y concentrado. Para alcanzar los niveles de FDN planteados en las dietas B, C y D, una parte del ensilado fue sustituida por rastrojo de maíz.

En cada periodo del cuadrado latino, los animales pasaron por una fase de adaptación a las dietas durante 20 días, seguida por una fase de medición de 4 días. Durante la adaptación las vacas fueron alojadas en estabulación individual y luego transferidas a una cámara de respiración de circuito cerrado tipo headbox, como describe (Pedraza-Baltrán *et al.*, 2016) donde se midió la emisión de metano. Antes de empezar la medición, las vacas fueron equipadas con una bolsa de plástico en forma de tubo alrededor de la vagina que termina en garrafón para recolectar orina. Como las vacas fueron ordeñadas dos veces al día (0600h y 1500h), la medición fue pausada 30 min, durante cada ordeña. Las vacas fueron pesadas el día de la medición, después de la ordeña de la mañana.

Durante todo el experimento, los animales fueron alimentados *ad libitum*, de forma que la oferta de cada día equivale al 110% del consumo del día anterior. De igual manera, los animales tenían un libre acceso al agua. El rechazo fue recogido y pesado cada día antes de la distribución matutina del alimento.

**Tabla 1. Ingredientes y composición química de las cuatro dietas experimentales**

	Dieta A	Dieta B	Dieta C	Dieta D
<b>Ingredientes (g/kg MS)</b>				
Ensilado de maíz/alfalfa	600.5	520.4	447.3	376.9
Rastrojo de maíz	-	80.1	153.2	223.6
Maíz molido	185.8	185.8	185.8	185.8
Pasta de soya	85.9	85.9	85.9	85.9
Canola	56.2	56.2	56.2	56.2
salvado	64.8	64.8	64.8	64.8

Suplemento mineral-vitamínico	6.8	6.8	6.8	6.8
-------------------------------	-----	-----	-----	-----

**Composición química (Media±DE)**

MS (%)	54.1±0.3	55±2.1	56.3±1.23	60.3±0.78
MO (g/kg MS)	915.4±18.5	927.1±14.2	923.8±12.6	923.2±12
PC (g/kg MS)	162±2.1	159.8±15.9	158.8±1.79	158.1±2.35
FDN (g/kg MS)	401.8±12.7	433.4±3.72	464.8±3.97	504.7±8.81
FDA (g/kg MS)	2441±6.1	282.1±6.43	310.5±7.24	347.3±19
LIG (g/kg MS)	31.7±8.1	39.4±4.84	52.9±6.97	58.8±9.2
CEL (g/kg MS)	213.1±16.4	242.6±7.83	257.6±8.55	288.4±24.4
HEM (g/kg MS)	157±15.4	151.4±10	154.3±9	157.5±18.7
NFC (g/kg MS)	326.9±16.8	310.4±14.4	281.2±29.2	240.4±34.5
EE (g/kg MS)	24.6±3.8	23.4±3.33	19.8±0.97	20±1.04
EB (MJ/kg MS)	17.07±0.4	16.95±0.58	16.97±0.67	16.61±0.95

---

DE= desviación estándar

*Muestro y análisis*

El alimento fue muestreado cada día durante la fase de medición, después de hacer la mezcla. Las muestras fueron, después, congeladas a -5°C hasta su posterior análisis. Se determinó el porcentaje de la materia seca (MS) dejando la muestra de alimento en estufa de aire forzado a 55°C durante 48h (método n° 7.007, AOAC 1980), Proteína Cruda (PC = N\*6.25; método n° 990.03, AOAC), Fibra Detergente Neutro (FDN) y Fibra detergente Ácido (FDA; Van Soest *et al.*, 1991), Lignina (Goering and Van Soest, 1970), Cenizas (CNZ) en una mufla a 530°C (método 942.05, AOAC 2000). El porcentaje de Materia Orgánica en la dieta fue determinado restando el porcentaje de CNZ del 100% de la dieta.

La concentración energética (EB) en la dieta fue determinado mediante una bomba calorimétrica adiabática (Parr, Illinois, EEUU).

La materia fecal generada cada día en la cámara fue colectada, pesada y luego se tomó una muestra del 10% del total y se guardó a  $-5^{\circ}\text{C}$  para su análisis posterior. Se hizo un pool para cada tratamiento y se tomó una alícuota del 10% para su análisis químico. De igual forma que las muestras de alimento, las muestras de heces fueron analizadas para su contenido de MS, PC, FDN, FDA, CNZ y EB para determinar tanto la digestibilidad aparente de la MS, de la energía y de los nutrientes (PC, FDN, FDA, MO) según la técnica de recolección de heces descrita por Schneider y Flatt (1975).

El volumen de la orina producida en 24h fue medido y una muestra recolectada el día de la medición. Para evitar la volatilización del nitrógeno (N) en la orina, fue agregada un 10% de ácido sulfúrico y la muestra fue congelada a  $-5^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis. El contenido energético de la orina fue estimado asumiendo que un gramo de N genera un calor de combustión equivalente a 9 kJ (Street *et al.*, 1964)

Después del análisis de heces y de la orina, la concentración de la energía digestible en la dieta fue calculada restando del consumo de la energía bruta (EBi), la energía perdida en las heces. En el mismo sentido, la concentración de la energía metabolizable de la dieta fue estimada restando la energía perdida en las heces, en la orina y aquella en forma de metano de la EBi. La producción diaria de  $\text{CH}_4$  fue convertida a energía asumiendo que 1 g de  $\text{CH}_4$  equivale a 55.22 KJ energía del alimento perdida en forma de metano (Brouwer, 1965).

La cantidad de leche producida fue tomada todos los días a momento de la ordeña, y la producción diaria fue calculada sumando la cantidad de leche producida en las dos ordeñas

(a las 0600h y a las 1500h). Durante la fase de medición, se tomó una muestra de leche de cada ordeña diaria y se guardó a 4°C. La composición de leche (Lactosa, Proteína, Grasa y Sólidos no grasoso) fue determinada mediante un analizador de leche por infrarrojo cercano (LactiCheck, LC-1.6/A, Page and Pedersen International Ltd).

La medición de metano entérico fue realizada en una cámara de respiración tipo Head Box. Antes de empezar el estudio las vacas fueron adaptadas a la cámara durante 1 mes. El aire dentro de la cámara fue succionado con un generador de masa y flujo (Sable Systems International, Las Vegas, Nevada, EEUU) a una potencia de 500 L/min para generar una presión negativa dentro de la cámara. Del total del aire succionado, una muestra cada segundo fue tomada y enviada al analizador de metano por infrarrojo modelo MA-10, de marca Sable Systems International. Las Vegas, Nevada, EEUU). Antes de cada corrida, el analizador de CH<sub>4</sub> fue calibrado con dos tipos de gases: N<sub>2</sub> puro para determinar el punto cero y una mezcla de gas que contiene CH<sub>4</sub> en un porcentaje 0.099%. La medición de CH<sub>4</sub> en cada animal se realizó en corridas de 23h (24h menos 30 min de cada ordeña). Los datos de porcentaje de CH<sub>4</sub> fueron captados en una computadora mediante un software (ExpeData, Sabale Systems International, Las Vegas, Nevada, EEUU) y luego convertidos a litros de metano por día.

#### *Análisis estadístico*

Los datos de consumo, digestibilidad, balance proteo-energético, producción y composición de leche y producción de metano fueron analizados mediante el procedimiento PROC MIXED en el paquete estadístico SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC) utilizando el siguiente modelo:

$$Y_{ij(k)m} = \mu + SQ_m + P(SQ)_{im} + A(SQ)_{jm} + T_{(k)} + e_{ij(k)m}$$

Donde  $Y_{ij(k)m}$  es la variable respuesta,  $\mu$  es la media general,  $SQ_m$  es el efecto del cuadro ( $m = 1$  u  $2$ ),  $P(SQ)_{im}$  es el efecto del periodo  $i$  ( $i = 1, \dots, 4$ ) dentro del cuadro  $m$ ,  $A(SQ)_{jm}$  es el efecto del animal  $j$  ( $j = 1, \dots, 4$ ) dentro del cuadro  $m$ ,  $T_{(k)}$  es el efecto del tratamiento  $k$  ( $k = 1, \dots, 4$ ) y  $e_{ij(k)m}$  es el error residual.

## Resultados y Discusión

Las dietas fueron formuladas para contener niveles de FDN crecientes sustituyendo el ensilado de maíz y alfalfa por el rastrojo de maíz. El rastrojo de maíz es un subproducto de baja calidad (NDF = 720 g/kgMS, PC = 60 g/kg MS y digestibilidad de 48%, datos no reportados) y su inclusión creciente en la dieta tuvo un efecto diluyente sobre el contenido proteico de la dieta (Tabla 1). En contraste, conforme incrementó el porcentaje de rastrojo de maíz en la dieta, el porcentaje de lignina en la misma aumentó (3.2, 3.9, 5.3 y 5.9% para las dietas A, B, C y D, respectivamente).

### *Consumo y digestibilidad*

El efecto del contenido de FDN en la dieta sobre el PV de los animales, así como el consumo y la digestibilidad de la dieta y de sus nutrientes se muestra en la Tabla 2. Como era de esperar, el consumo de la fibra (FDN, FDA, Lignina y Celulosa) incrementó conforme aumentaba la inclusión de rastrojo en la dieta ( $P = 0.0008$ ,  $0.0003$ ,  $<0.0001$  y  $<0.001$ , respectivamente), sin afectar el consumo total de los carbohidratos no fibrosos (CNF). Este subproducto forrajero es el responsable de la caída de la calidad de las dietas B, C y D pues la DMS se redujo 21% ( $P < 0.0001$ ) en la dieta D, de mayor inclusión de rastrojo, en comparación con la dieta A, la cual estaba libre de rastrojo. De otro lado, el aumento de la fibra en las dietas desde 40% hasta 50% de FDN no limitó el CMS. Generalmente, el mayor contenido de fibra en la dieta se asocia con menor ingestión de la misma (Allen, 2000). No obstante, Einarson *et al.* (2004) demostraron que la calidad química de la fibra no se puede considerar como el único factor determinante del consumo sino que además es necesario considerar sus características físicas que son determinadas por su tamaño de partícula. El rastrojo de maíz añadido en las dietas B, C y D, fue molido

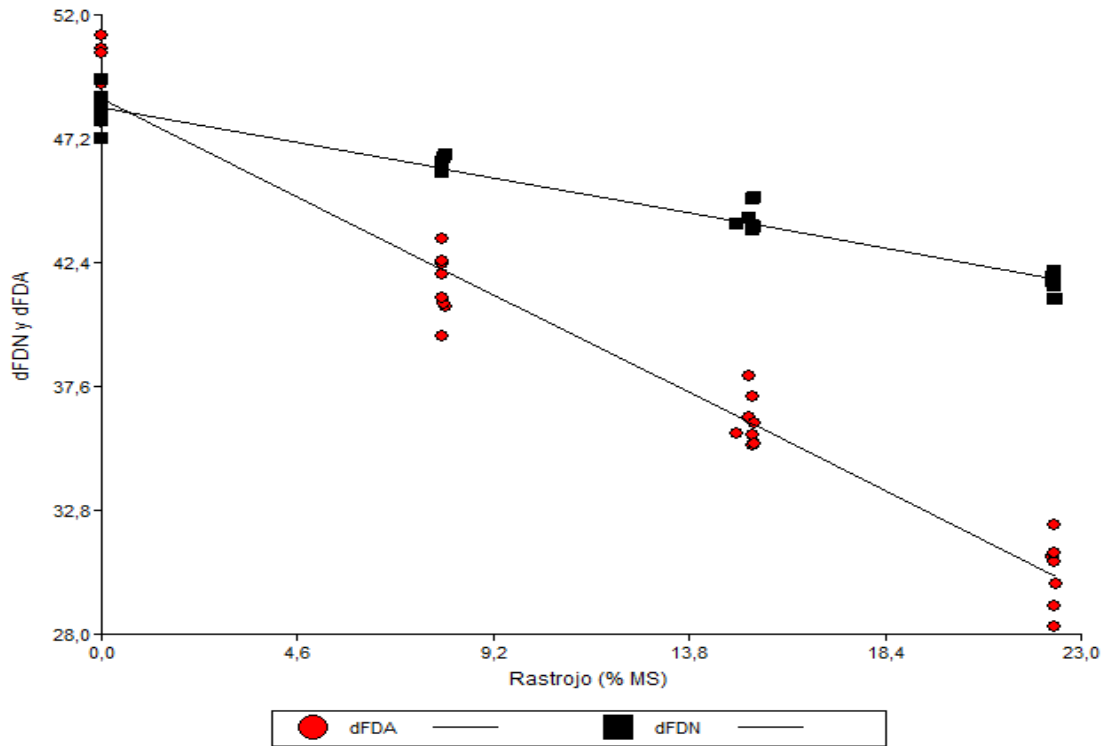


previo a su inclusión en la dieta a un tamaño de 8 mm, por lo cual, creemos que su tamaño de partícula no estaba lo bastante grande como para ejercer el efecto físico de llenado en el rumen y limitar así el consumo. Por lo tanto, el efecto del consumo de rastrojo se observa mayormente a nivel de la digestibilidad de la dieta en su conjunto. Por otro lado, la reducción de la DMS en las dietas B, C y D resultó en un consumo compensatorio de esas dietas, de forma que la cantidad de MS digestible ingerida al final es igual en todos los tratamientos (MSDi, Tabla 2). Wang *et al.* (2014) observaron también un consumo compensatorio en dietas a base rastrojo de maíz y a base paja de arroz en comparación con dieta a base de alfalfa, lo anterior con el objeto de alcanzar una ingesta de energía digestible similar en las tres dietas.

En proporción al PV de los animales, el consumo de materia seca tendió a aumentar conforme aumentó el nivel de rastrojo de maíz en la dieta ( $P=0.06$ ), hasta un máximo de 3.5%.

La digestibilidad de las dietas presentó una reducción lineal significativa ( $P<0.0001$ ) con el aumento de la fibra. Eso se explica por el estado de lignificación del rastrojo de maíz usado (LIG = 9.5%) que se refleja en su digestibilidad que está alrededor de 49% (dato no reportado en las tablas).

De igual forma, la digestibilidad de la MO, de FDN, de FDA y de PC se redujo linealmente con el aumento del rastrojo en la dieta. La figura 1 muestra la relación lineal entre el porcentaje del rastrojo en la dieta y la digestibilidad tanto de la FDN como de la FDA, se puede observar que la disminución de la digestibilidad es más marcada para el caso de la FDA que en la FDN, ya que por cada porcentaje de rastrojo más en la dieta la dFDN baja 1.6% y la dFDA 4.45%.



**Figura 1.** Relación entre el porcentaje del rastrojo en la dieta y la digestibilidad de la fibra detergente neutro ( $dFDN \% = 48.2 - 1.6 \times \% \text{ de rastrojo}$ ;  $R^2 = 0.90$ ) y la digestibilidad de la fibra detergente ácido ( $dFDA \% = 48.2 - 4.45 \times \% \text{ de rastrojo}$ ;  $R^2 = 0.91$ )

**Tabla 2. Peso vivo (kg) y metabólico (kg) y el consumo de materia seca y de los nutrientes (kg/d) de las cuatro dietas experimentales.**

	Dietas experimentales				EEM	P valor	Contraste		
	A	B	C	D			Lineal	Cuadr.	Cub.
PV	441.1	440.8	431.2	447.5	10.12	NS	NS	NS	NS
PV <sup>0.75</sup>	96.21	96.14	94.58	97.18	1.93	NS	NS	NS	NS
<b>Consumo (kg/d)</b>									
CMS	13.45	14.34	15.44	15.65	0.81	NS	0.016	NS	NS
CMS%PV	2.92	3.22	3.55	3.50	0.19	0.06	0.017	NS	NS
MOi	11.79	13.29	13.89	14.43	0.73	0.07	0.017	NS	NS
PCi	2.50	2.48	2.32	2.11	0.13	NS	0.026	NS	NS
FDNi	5.14c	6.20bc	7.17ab	7.90a	0.36	0.0008	0.0001	NS	NS
FDAi	3.10c	4.05bc	4.78ab	5.44a	0.27	0.0003	<.0001	NS	NS
LIGi	0.41b	0.58b	0.83 <sup>a</sup>	0.92a	0.05	<.0001	<.0001	NS	NS
CELi	2.69c	3.46bc	3.96ab	4.53a	0.24	0.001	0.0001	NS	NS
HEMi	2.06	2.16	2.40	2.47	0.14	NS	0.02	NS	NS
CNFi	4.28	4.45	4.42	3.78	0.24	NS	NS	NS	NS
EBi	219.9	241.8	262.2	261.5	14.1	NS	0.03	NS	NS
<b>Digestibilidad (%)</b>									
dMS	73.6a	68.3b	62.2c	57.9d	1.00	<.0001	<.0001	NS	NS
dEB	75.4a	69.2ab	62.5bc	58.6c	1.85	0.0001	<.0001	NS	NS
dMO	72.8a	67.4ab	61.4bc	58.5c	2.15	0.002	0.0003	NS	NS
dFDN	48.3a	46.2ab	44.2b	41.6c	0.50	<.0001	<.0001	0.06	NS
dFDA	49.1a	41.5b	36.3c	30.4d	0.44	<.0001	<.0001	0.07	NS
dPC	70.3a	69.5ab	68.9ab	68.7b	0.33	0.01	0.002	NS	NS
MSDi	9.58	9.84	9.70	9.10	0.51	NS	NS	NS	NS
EDi	167.3	167.9	165.3	152.4	9.35	NS	NS	NS	NS

PV: Peso vivo (kg), PV<sup>0.75</sup>: Peso metabólico (kg), CMS: Consumo de materia seca (kg/d), CMS%PV: consumo de materia seca en proporción el PV (%), MOi: Consumo de materia orgánica (kg/d), PCi: Consumo de proteína cruda (kg/d), FDNi: Consumo de FDN (kg/d), FDAi: Consumo de FDA (kg/d), LIGi: Consumo de Lignina (kg/d), CELi: Consumo de Celulosa (kg/d), HEMi: Consumo de Hemicelulosa (kg/d), CNFi: Consumo de CNF (kg/d), EBi: Consumo de EB (MJ/d), dMS: digestibilidad de materia seca (%), dEB: Digestibilidad de la EB (%), dMO: Digestibilidad de la MO (%), dFDN: digestibilidad de la FDN (%), dFDA: digestibilidad de la FDA (%), dPC: digestibilidad de PC (%), MSDi: Materia seca digestible ingerida (kg/d) y EDi: Energía digestible ingerida (MJ/d).

**Tabla 3. Producción y calidad de la leche en las cuatro dietas experimentales.**

	Dietas experimentales				EEM	P valor	Contraste		
	A	B	C	D			Lineal	Cuadr.	Cub.
<i>Producción kg/d</i>									
Leche	16.1	17.9	16.9	17.1	2.32	NS	NS	NS	NS
ECM <sup>a</sup>	16.9	17.2	19.5	19.8	1.86	NS	0.06	NS	NS
Grasa	0.56	0.66	0.62	0.67	0.09	0.09	NS	NS	NS
Proteína	0.54	0.60	0.58	0.59	0.08	NS	NS	NS	NS
<i>Composición %</i>									
Grasa	3.65b	3.67b	3.69ab	3.95a	0.04	0.03	0.01	NS	NS
Proteína	3.51	3.4	3.42	3.39	0.04	0.09	0.08	NS	NS
SNG <sup>b</sup>	8.63	8.89	8.76	8.61	0.15	0.07	NS	0.02	NS
Eficiencia <sup>c</sup>	1.21	1.15	1.17	1.12	0.11	NS	NS	NS	NS
Conversión N <sup>d</sup>	0.26	0.25	0.25	0.24	0.02	NS	NS	NS	NS

<sup>a</sup> Leche corregida por energía =  $0.3246 \times \text{leche (kg/d)} + 13.86 \times \text{grasa (kg/d)} + 7.04 \times \text{proteína (kg/d)}$  (Orth, 1992). <sup>b</sup> Sólidos no grasosos. <sup>c</sup> Eficiencia alimenticia =  $\text{Leche (kg)}/\text{CMS (kg)}$ . <sup>d</sup> conversión de nitrógeno =  $\text{proteína (kg)}/\text{PCI (kg)}$ .

Los ingredientes y la composición de la dieta que afectan la digestibilidad de la misma podrían tener impacto sobre la producción y la calidad de la leche (Weiss *et al.*, 2009). En el presente estudio, la producción diaria de leche no se vio afectada por el aumento de la fibra en la dieta, a pesar de la disminución de la digestibilidad. Esto se debe a que las vacas en todas las dietas tuvieron una ingesta igual de energía digestible (Tabla 2). Sin embargo, el porcentaje de la grasa en la leche aumentó con el contenido de fibra, lo cual está relacionado con mayor concentración en el rumen de ácidos grasos volátiles precursores de lipogénesis, principalmente acético y butírico (Casse *et al.*, 1993). De otro lado, el porcentaje de la proteína en la leche tiende a disminuirse con la aumento de la fibra sin llegar a ser significativo ( $P > 0.05$ ). Su porcentaje en la leche es generalmente asociado con el aporte de la dieta en proteína metabolizable (NRC, 2001), que a su vez presentó una tendencia ( $p \text{ valor} = 0.09$ ) a disminuirse cuanto más rastrojo en la dieta (Tabla 4). Por otro

lado, el contenido proteico de la leche depende de la síntesis de la proteína microbiana (Zhu *et al.*, 2013) y en el presente estudio la síntesis de la proteína microbiana puede estar comprometido por el disminución de los carbohidratos rápidamente fermentable (Lascano y Heinrichs, 2011) representados principalmente por los CNF (Nocek and Russell, 1988).

La eficiencia alimenticia fue similar entre las 4 dietas experimentales a pesar del aumento de la fibra, de forma que las vacas produjeron entre 1.12 y 1.21 kg de leche por cada kg de MS ingerida. Wang *et al.* (2014) reportaron datos parecidos cuando probaron dietas a base de de rastrojo de maíz (30% de inclusión) y a base de paja de maíz (30% de inclusión) y resultaron en una eficiencia alimenticia de 1.07 y 1.16 respectivamente. La conversión de nitrógeno en las 4 dietas no se vio afectada por la mayor inclusión de la fibra y en promedio 25% de la proteína ingerida por las vacas es convertida en proteína de leche, lo cual concuerda con otros estudios donde la conversión de N oscila entre 21 y 26% en vacas lecheras cuya dieta se basa en ensilado de maíz, concentrado y 19% de rastrojo de maíz (Zhu *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2014).

**Tabla 4. Balance energético y proteico de las vacas consumiendo las cuatro dietas experimentales.**

	Dietas experimentales				EEM	P valor	Contraste		
	A	B	C	D			Lineal	Cuadr.	Cub.
<i>Energía (MJ/d)</i>									
EBI	219.9	241.8	262.2	261.5	14.1	NS	0.03	NS	NS
EF	54.3a	74.0ab	98.6bc	109.9c	7.25	0.0007	<.0001	NS	NS
EDI	167.3	167.9	165.3	152.4	9.34	NS	NS	NS	NS
EU	9.40	10.2	10.8	11.0	0.47	0.09	0.02	NS	NS
EMI	141.7	141.7	140.5	128.4	8.24	NS	NS	NS	NS
EM:EB	0.64a	0.58ab	0.53bc	0.50c	0.018	0.0006	<.0001	NS	NS
EM:ED	0.84	0.84	0.85	0.84	0.005	NS	NS	NS	NS
<i>Proteína</i>									
PCI (kg/d)	2.50	2.48	2.32	2.21	0.13	NS	0.025	NS	NS
NF (g/d)	110.1	112.4	118.5	119.2	7.50	NS	0.02	NS	NS
PDI (kg/d)	1.77	1.72	1.60	1.46	0.08	NS	0.03	NS	NS
UN (g/d)	159	169.9	179.2	181.3	11.26	NS	NS	NS	NS
PMI (Kg/d)	0.75	0.78	0.66	0.57	0.11	0.09	0.01	NS	NS
PM:PC	0.3	0.32	0.29	0.27	0.07	NS	NS	NS	NS
PM:PD	0.43	0.46	0.42	0.4	0.05	NS	NS	NS	NS

Ebi = energía bruta ingerida, EF = energía perdida en la materia fecal, EDI = energía digestible ingerida, EU = energía perdida en la orina, EMI = energía metabolizable ingerida, EM:EB = relación EM/EB, EM:ED = relación EM/ED, PCI = proteína cruda ingerida, NF = nitrógeno perdido en las heces, PDI = proteína digestible ingerida, UN = nitrógeno perdido en la orina, PMI = proteína metabolizable ingerida, PM:PC = relación PM/PC, PM:PD = relación PM/PD.

#### *Balance energético y proteico*

El consumo diario de EB no se afectó por el aumento de la fibra (entre 220 y 260 MJ/d de EB, Tabla 4). Sin embargo, la pérdida energética a través de las heces incrementó linealmente (P valor = 0.0007), lo cual se ve reflejado en la digestibilidad aparente de la MS que disminuyó de 72% a 58% cuando la cantidad de restrojo de maíz en la dieta aumentó de 0 a 25%. Esto se debe a la baja calidad del rastrojo, como se mencionó anteriormente, que tiene una dMS aparente de alrededor de 49% y un contenido de FDN superior al 720g en cada kg de MS, de lo cual 13.2% es lignina (datos no publicados aquí). A pesar de eso, la cantidad total de ED (kg/d) ingerida fue similar entre todas las dietas, ya

que las vacas en las dietas de menor digestibilidad presentaron una tendencia a un consumo compensatorio (Tabla 2) para alcanzar un consumo de EM que cubriese sus necesidades para mantenimiento y producción de leche. El resto del balance energético no se vio afectado por el nivel creciente de la fibra. No obstante, la proporción de EB que se convierte en EM (EM:EB), disminuye significativamente (P valor = 0.0006) con el incremento de la fibra en la ración. Dicho resultado se explica por la mayor pérdida de energía en las heces con el mayor contenido de fibra dietética.

De otro lado, el aumento del rastrojo de maíz en la dieta no tuvo efecto significativo en el balance proteico de la dieta. La única tendencia que se puede señalar es el menor consumo de PM (p valor = 0.09).

#### *Emisión de metano*

La Tabla 5 resume los datos de la producción de CH<sub>4</sub> por las vacas en las 4 dietas experimentales. La producción diaria de metano (l/d) fue similar en las 4 dietas experimentales. Sin embargo, el rendimiento en CH<sub>4</sub> (l/kg MS ingerida) y el porcentaje de energía perdida en forma de metano (Y<sub>m</sub>) disminuyen significativamente (P valor <0.0001) con el incremento en la concentración de FDN (menor digestibilidad y mayor contenido fibroso), desde 31 hasta 21 l/kg MSI para el rendimiento CH<sub>4</sub> y desde 7.4 hasta 5% para Y<sub>m</sub>. En un estudio de meta-análisis basado en 35 trabajos de investigación sobre emisión de metano por el ganado en el diferentes zonas tropicales de la India y de Brazil (Patra, 2015), el rendimiento de CH<sub>4</sub> puede oscilar entre 9 y 60 l/kg MSI, con un promedio de alrededor de 26 l/kg MSI y Y<sub>m</sub> entre 2 y 10.6% con un promedio de 5.8%. En comparación, otros trabajos meta-analíticos en Europa (Yan *et al.*, 2009) y Norte América (Ellis *et al.*, 2007), donde la calidad de la dieta es alta, se reportaron datos de rendimiento

de CH<sub>4</sub> entre 31.3 y 37.6 l/kg MSI. Éstos últimos se acercan más al resultado dado por la dieta A, la cual contiene menor FDN y mayor digestibilidad. Conforme baja la calidad en las dietas B, C y D, el rendimiento de CH<sub>4</sub> y el Y<sub>m</sub> se asemeja más a lo reportado por Patra (2015). Para el caso de México, Piñeiro-Vázquez *et al.* (2017) encontraron que en el trópico mexicano, las vacas que comen una dieta con 67% de FDN producen por cada kg de dieta (MS) 19.5 l, perdiendo así 5.2% de la EBI en forma de CH<sub>4</sub>. Lo cual, concuerda con lo observado en los tratamientos C y D que representan las dietas más fibrosas en nuestro estudio (Tabla 5).

**Tabla 5. Producción de metano por las vacas en las cuatros dietas experimentales**

	Dietas experimentales				EEM	P valor	Contraste		
	A	B	C	D			Lineal	Cuadr.	Cub.
CH <sub>4</sub> l/d	409	405	381	390	21.3	NS	NS	NS	NS
CH <sub>4</sub> l/kg MS	32.1a	28.1b	23.1c	21.2d	0.43	<.0001	<.0001	NS	NS
Y <sub>m</sub>	7.41a	6.60b	5.36c	5.00d	0.09	<.0001	<.0001	NS	NS
CH <sub>4</sub> l/kg leche	28.9	30	20.2	21.2	3.81	NS	0.07	NS	NS

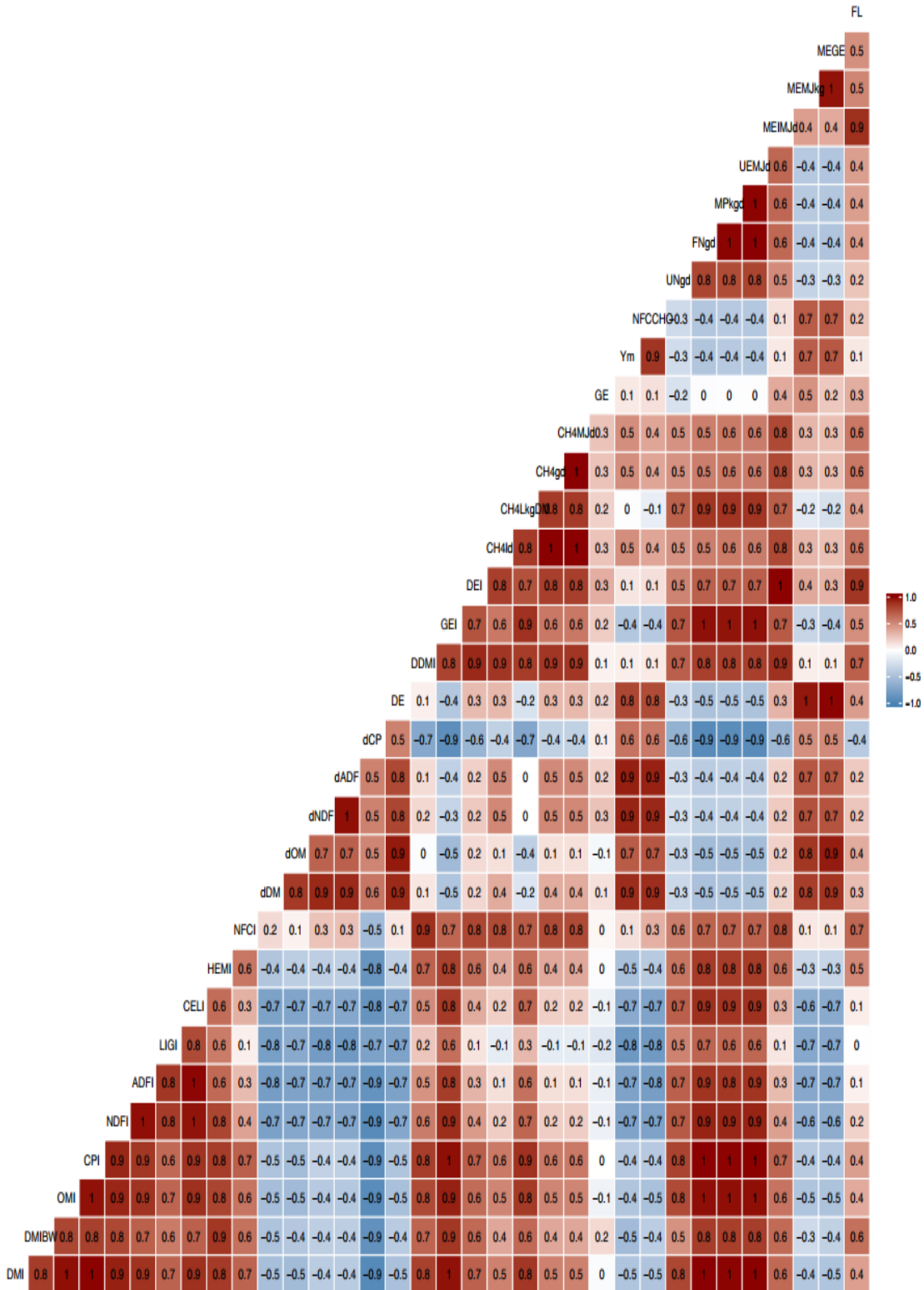
La disminución de la emisión de metano por unidad de alimento ingerido se explica en el presente estudio por la reducción en la calidad de la dieta. El gas metano es un producto de la fermentación ruminal y la reducción de la digestibilidad de la MS y también de los carbohidratos estructurales significa menor sustrato digestible, lo que conllevó posiblemente a menor fermentación por unidad de alimento consumido (Patra, 2015). Como ejemplo, Kurihara *et al.* (1999) estudiaron la producción de CH<sub>4</sub> con dos pastos, heno *Dicanthium aristatum* (55% de dFDN) y heno de *Chloris gayana* (69% de dFDN) y observaron que tanto la producción diaria de CH<sub>4</sub> como el rendimiento CH<sub>4</sub> son más bajos con *Dicanthium aristatum* que con *Chloris gayana* (158 vs. 360 l/d y 44 vs. 51 l/kg MSI, respectivamente).



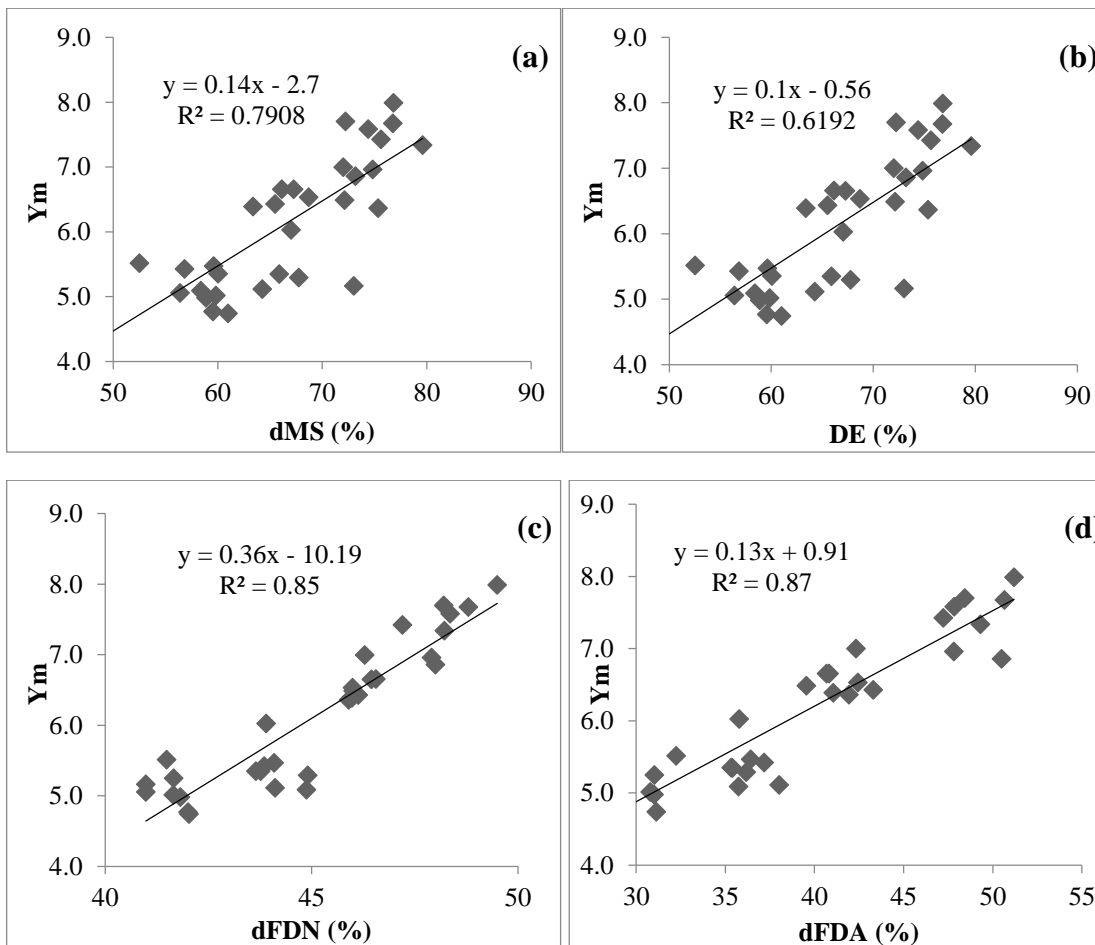
La figura 2 muestra el resultado del análisis de correlación entre el consumo de MS y de los diferentes nutrientes, la producción de metano y la utilización de energía y de nitrógeno. Se puede observar que la variable  $Y_m$  se correlaciona fuerte y positivamente con todas las digestibilidades ( $r$  entre 0.8 y 0.9) siendo mejor la correlación cuando se trata de la digestibilidad de la fibra (dFDN y dFDA) que con la dMS. La regresión lineal graficada en la figura 3 entre  $Y_m$  y dMS (a), DE (b), dFDn (c), dFDN (d) ilustra mejor la relación lineal positiva entre el factor de partición de energía hacia  $CH_4$  y las digestibilidades. La  $r^2$  de la regresión relacionada con la dFDN y de la dFDA es mayor que en la regresión basada en dMS y DE (0.85 y 0.87 vs. 0.79 y 0.62, respectivamente). Esto indica una mejor explicación de la variabilidad de  $Y_m$  mediante la digestibilidad de fibra que a través de la digestibilidad de la MS o de la energía. Por otro lado, aunque el  $Y_m$  disminuye con el aumento del nivel de fibra en la dieta (Tabla 5), este  $Y_m$  incrementa con el aumento de la parte digestible de la fibra (Figura 3, c y d). Un trabajo reciente (Kume, 2016) destacó también que la producción de metano se explica mejor con la digestibilidad de la fibra que con su contenido en la dieta.

## **Conclusión**

El uso del rastrojo de maíz en la alimentación de ganado lechero en México conlleva a reducir la calidad de la dieta, manifestada en la baja digestibilidad y el alto contenido en fibra. Dicho incremento de fibra no limitó la ingesta de alimento, sin embargo, afectó negativamente el rendimiento de metano (kg) y también partición de energía hacia metano, de forma que al aumentar el nivel de FDN en la dieta de 40 a 50% redujo el  $Y_m$  baja de 7.4 a 5%. En el presente estudio, la digestibilidad la fibra (dFDN y dFDA) explica mejor la emisión metano que la digestibilidad de la materia seca.



**Figura 2.** Correlación entre la producción de metano y el consumo y la digestibilidad de materia seca y de los nutrientes y el balance energético y proteico.



**Figura 3.** Relación entre Ym y la digestibilidad de: MS (a), Energía (b), FDN (c) y FDA (d) de las cuatro dietas experimentales (n = 32).

## VII. CONCLUSIÓN GENERAL

A partir de los estudios presentados en este documento, se puede concluir que la región de América Latina y el Caribe ha generado escasa información sobre la contribución de sus sistemas ganaderos en las emisiones de gas metano, a pesar del gran número de cabezas del ganado que habita en dicha región. Los esfuerzos realizados hasta el momento se han centrado principalmente en estudios *in vitro*, no obstante, existen algunos trabajos *in vivo* enfocados a probar estrategias de mitigación y algunas determinaciones de factores de emisión. La recopilación de los datos de medición de metano *in vivo* en América Latina ha resultado en un mejor entendimiento de los factores que afectan la producción de metano en la región. Pues la variabilidad en emisión de este gas está relacionada mayormente con la cantidad de alimento que puede ingerir el vacuno y la calidad de del mismo que está definida por su digestibilidad y su contenido en fibra. De otro lado, al final del estudio de meta-análisis se forma una teoría que consiste en la posibilidad de mejorar la estimación de la emisión de metano al remplazar, en la ecuación de predicción, el contenido de FDN con la digestibilidad de FDN. El trabajo experimental viene a afirmar dicha teoría ya que la digestibilidad tanto de la FDN como de la FDA explica mejor la emisión de metano que la digestibilidad de la materia seca o el contenido en fibra en la dieta. Este trabajo sugiere que a mayor concentración de fibra y menor digestibilidad de la misma, la producción de metano se reduce.

## Bibliografía

Allen, M. S., and P. Piantoni. 2014. Carbohydrate Nutrition: Managing Energy Intake and Partitioning Through Lactation. *Vet. Clin. North Am. - Food Anim. Pract.* 30:577–597. doi:10.1016/j.cvfa.2014.07.004. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvfa.2014.07.004>

Archimède, H., M. Eugène, C. Marie Magdeleine, M. Boval, C. Martin, D. P. Morgavi, P. Lecomte, and M. Doreau. 2011. Comparison of methane production between C3 and C4 grasses and legumes. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166-167:59–64. doi:10.1016/j.anifeedsci.2011.04.003.

Charmley, E., S. R. O. Williams, P. J. Moate, R. S. Hegarty, R. M. Herd, V. H. Oddy, P. Reyenga, K. M. Staunton, a. Anderson, and M. C. Hannah. 2016. A universal equation to predict methane production of forage-fed cattle in Australia. *Anim. Prod. Sci.* 56:169–180. doi:10.1071/AN15365.

Ellis, J. L., E. Kebreab, N. E. Odongo, K. Beauchemin, S. McGinn, J. D. Nkrumah, S. S. Moore, R. Christopherson, G. K. Murdoch, B. W. McBride, E. K. Okine, and J. France. 2009. Modeling methane production from beef cattle using linear and nonlinear approaches. *J. Anim. Sci.* 87:1334–1345. doi:10.2527/jas.2007-0725.

Ellis, J. L., E. Kebreab, N. E. Odongo, B. W. McBride, E. K. Okine, and J. France. 2007. Prediction of methane production from dairy and beef cattle. *J. Dairy Sci.* 90:3456–66. doi:10.3168/jds.2006-675. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17582129>

Goering, H. K., and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis. *Agric. Handb.* 1–19.

Hammond, K. J., D. Pacheco, J. L. Burke, J. P. Koolgaard, S. Muetzel, and G. C. Waghorn. 2014. The effects of fresh forages and feed intake level on digesta kinetics and enteric methane emissions from sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 193:32–43. doi:10.1016/j.anifeedsci.2014.04.005. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.04.005>

Joseph C . Street, J. E. . B. and L. E. . H. 1964. Estimating Urine Energy from Urine Nitrogen. *J. Anim. Sci.* 23:1039–1041. doi:10.2527/jas1964.2341039x. Available from: <http://dx.doi.org/10.2527/jas1964.2341039x>

Kennedy, P. M., and E. Charmley. 2012. Methane yields from Brahman cattle fed tropical grasses and legumes. *Anim. Prod. Sci.* 52:225–239. doi:10.1071/AN11103.

Kurihara, M., T. Magner, R. a Hunter, and G. J. McCrabb. 1999. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. *Br. J. Nutr.* 81:227–234. doi:10.1017/S0007114599000422. Available from: [ISI:000080060600008\nc:/reference/1674.pdf](http://ISI:000080060600008\nc:/reference/1674.pdf)

Lascano, G. J., and a. J. Heinrichs. 2011. Effects of feeding different levels of dietary fiber through the addition of corn stover on nutrient utilization of dairy heifers precision-fed high and low concentrate diets. *J. Dairy Sci.* 94:3025–3036. doi:10.3168/jds.2010-3831. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030211002906>

McAllister, T. a., K.-J. Cheng, E. K. Okine, and G. W. Mathison. 1996. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Can. J. Anim. Sci.* 76:231–243. doi:10.4141/cjas96-035. Available from: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.4141/cjas96-035>

Moe, P. W., and H. F. Tyrrell. 1979. Methane production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 62:1583 – 1586. doi:10.3168/jds.S0022-0302(79)83465-7. Available from: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(79\)83465-7](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(79)83465-7)

Nkrumah, J. D., E. K. Okine, G. W. Mathison, K. Schmid, C. Li, J. a. Basarab, M. a. Price, Z. Wang, and S. S. Moore. 2006. Relationships of feedlot feed efficiency, performance, and feeding behavior with metabolic rate, methane production, and energy partitioning in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 84:145–153. doi:10.2527/2006.841145x.

Nocek, J. E., and J. B. Russell. 1988. Protein and Energy as an Integrated System. Relationship of Ruminal Protein and Carbohydrate Availability to Microbial Synthesis and Milk Production. *J. Dairy Sci.* 71:2070–2107. doi:10.3168/jds.S0022-0302(88)79782-9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030288797829>

NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. Available from: <http://www.nap.edu/catalog/9825>

Patra, A. K. 2015. Prediction of enteric methane emission from cattle using linear and non-linear statistical models in tropical production systems. *Mitig. Adapt. Strateg. Glob. Chang.* 22:629–650. doi:10.1007/s11027-015-9691-7.

Piñeiro-Vázquez, A. T., G. O. Jiménez-Ferrer, A. J. Chay-Canul, F. Casanova-Lugo, V. F. Díaz-Echeverría, A. J. Ayala-Burgos, F. J. Solorio-Sánchez, C. F. Aguilar-Pérez, and J. C. Ku-Vera. 2017. Intake, digestibility, nitrogen balance and energy utilization in heifers fed low-quality forage and *Leucaena leucocephala*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 228:194–201. doi:10.1016/j.anifeedsci.2017.04.009. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.04.009>

Ramin, M., and P. Huhtanen. 2013. Development of equations for predicting methane emissions from ruminants. *J. Dairy Sci.* 96:2476–2493. doi:10.3168/jds.2012-6095. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030213000945>

Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. a. Lewis. 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition.

J. Dairy Sci. 74:3583–3597. doi:10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030291785512>

Wang, B., S. Y. Mao, H. J. Yang, Y. M. Wu, J. K. Wang, S. L. Li, Z. M. Shen, and J. X. Liu. 2014. Effects of alfalfa and cereal straw as a forage source on nutrient digestibility and lactation performance in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 97:7706–7715. doi:10.3168/jds.2014-7961. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030214006481>

Weiss, W. P., N. R. St-Pierre, and L. B. Willett. 2009. Varying type of forage, concentration of metabolizable protein, and source of carbohydrate affects nutrient digestibility and production by dairy cows. J Dairy Sci. 92:5595–5606. doi:10.3168/jds.2009-2247. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19841220> \n [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(09\)70892-6/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(09)70892-6/pdf)

Yan, T., M. G. Porter, and C. S. Mayne. 2009. Prediction of methane emission from beef cattle using data measured in indirect open-circuit respiration calorimeters. Animal. 3:1455–62. doi:10.1017/S175173110900473X. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22444941>

Zhu, W., Y. Fu, B. Wang, C. Wang, J. a. Ye, Y. M. Wu, and J.-X. Liu. 2013. Effects of dietary forage sources on rumen microbial protein synthesis and milk performance in early lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 96:1727–1734. doi:10.3168/jds.2012-5756. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002203021300012X>