



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA
SALUD ANIMAL

ESTIMACIÓN DEL APORTE DE ENERGÍA METABOLIZABLE EN BOVINOS F1 Y DESARROLLO
DE ESTRATEGIAS DE MITIGACIÓN DE EMISIONES DE METANO POR FERMENTACIÓN
ENTÉRICA

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA

MARÍA FERNANDA VÁZQUEZ CARRILLO

TUTOR PRINCIPAL

OCTAVIO ALONSO CASTELÁN ORTEGA. FMVZ, UAEMex

COMITÉ TUTOR

MANUEL GONZALEZ RONQUILLO. FMVZ, UAEMex

EPIGMENIO CASTILLO GALLEGOS. FMVZ, UNAM

Ciudad Universitaria, CD. MX.

febrero 2022

Contenido

Resumen.....	1
Abstract	5
Lista de cuadros	8
Lista de figuras.....	9
Publicaciones y resúmenes en congresos	10
Introducción	12
Capítulo I INTRODUCTORIO.....	14
1. Revisión de literatura.....	15
1.1. Bioenergética	15
1.2. Calorimetría.....	16
1.3. Partición de la energía bruta consumida por el rumiante	20
1.3.1. Energía Bruta.....	20
1.3.2. Energía Digestible.....	21
1.3.3. Energía Metabolizable y el Incremento Calórico	21
1.3.4. Energía Neta	23
1.4. La importancia de un sistema energético propio	27
1.5. El metano entérico como pérdida de energía y su papel como gas de efecto invernadero .	30
1.6. Uso de plantas o extractos como estrategia de mitigación de metano entérico	33
1.6.1. Taninos Condensados.....	34
1.6.2. Aceites esenciales.....	35
1.6.3. Saponinas	36
1.6.4. Flavonoides	37
1.6.5. <i>Cymbopogon citratus</i>	38
2. Justificación	39
3. Objetivos generales	40
3.1. Objetivos específicos	40
Capítulo II ESTIMACIÓN DE LA ENERGÍA METABOLIZABLE EN BOVINOS F1 A PARTIR DE LA CUANTIFICACIÓN DE LAS EMISIONES DE METANO POR FERMENTACIÓN ENTÉRICA.....	42
Capítulo III DESARROLLO DE ESTRATEGIAS DE MITIGACIÓN DE EMISIONES DE METANO POR FERMENTACIÓN ENTÉRICA.....	52
Capítulo IV EMISIONES DE METANO POR FERMENTACIÓN ENTÉRICA DE LA GANADERÍA BOVINA DE MÉXICO: LA IMPORTANCIA DE CONTAR CON	

INVENTARIOS NACIONALES PRECISOS Y DE ESTRATEGIAS VIABLES DE MITIGACIÓN.....	70
Capítulo V DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES.....	85
5.1. Discusión general	86
5.2. Conclusiones generales	91
6. Referencias.....	92
7. Anexos.....	100

Resumen

Conociendo la partición de la energía bruta ingerida (EBi) a lo largo de su proceso en el rumiante, se pueden buscar alternativas de manejo nutricional que permitan reducir las pérdidas de energía e incrementar la cantidad de energía retenida en forma de productos utilizables para la alimentación humana como leche o carne. En este sentido, uno de los factores determinantes de dicha partición es el factor Y_m , el cual es la fracción de la energía bruta (EB) del alimento que se transforma en metano (CH_4), este gas es uno de los productos finales de la fermentación que sufren los alimentos en el rumen, aunado a que es una pérdida de energía, también contribuye a las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI). El hecho de disminuir la producción de CH_4 conllevaría a hacer un uso más eficiente de la EBi que podría ser aprovechada para ser transformada en carne o leche, y además se reducirían las emisiones de CH_4 hacia el medio ambiente. El CH_4 producido por fermentación entérica de los bovinos es de suma relevancia ya que para el año 2019, contribuía con el 27 % del total producido por el sector de agrícola, silvicultura y otros usos de la tierra (AFOLU, por sus siglas en inglés), y a su vez dicho sector representaba el 24 % del total de GEI producidos mundialmente. Dentro de este contexto, el objetivo de esta investigación fue calcular las necesidades energéticas de bovinos y la capacidad de los alimentos para satisfacerlas, en condiciones y con insumos propios de México, así como evaluar e implementar estrategias de alimentación que resulten en una reducción de las emisiones de CH_4 entérico, que conlleven en su conjunto a una mayor eficiencia en la utilización de la energía por los animales. Con el objeto de cumplir estos objetivos se llevaron a cabo 3 experimentos (Exp) in vivo. Exp. 1) Se estimó el consumo de materia seca (CMS), la digestibilidad de las dietas (DIG), la producción y rendimiento de CH_4 , la partición de la EBi, la densidad energética y

metabolización (metabolicidad) de las dietas (qm), la relación energía metabolizable (EM): energía digestible (ED) y el factor de partición de la energía hacia metano (Y_m), utilizando la técnica de cámaras de respiración de circuito abierto. Se utilizaron cuatro novillas F1 Holstein × Charolais con propósito de carne, con un peso vivo de 206 ± 39.7 kg y 12 ± 0.93 meses de edad; distribuidas en un diseño completamente al azar con submuestreo. Se probaron dos dietas tipo, representativas de una región de clima templado de México. La dieta A estaba compuesta de 74% de ensilado de maíz + 26% de concentrado y la dieta B estuvo compuesta por 100% de ensilado de maíz. El CMS, DIG, factor Y_m y el rendimiento de metano (g CH_4 / kg de CMS) para ambas dietas fue diferente ($P \leq 0.05$). Siendo mayor el CMS y DIG en la dieta A (6.4 ± 0.4 kg MS y 74.7 ± 0.05 %, respectivamente), con respecto a la dieta B (4.6 ± 0.4 kg MS y 57.7 ± 0.03 %, respectivamente). El rendimiento de metano y el factor Y_m fueron menores en la dieta A (15.4 ± 1.2 CH_4 g / kg CMS y 5.7 ± 0.06 %) en contraste con la dieta B (20.7 ± 3.2 CH_4 g / kg CMS y 7.4 ± 1.2 %). La relación EM:ED fue diferente para ambas dietas, siendo mayor en la dieta A (0.87 ± 0.02) respecto a la dieta B (0.83 ± 0.03) ($P \leq 0.05$), y la producción diaria de CH_4 fue igual para ambas dietas (A 137.7 ± 4.8 y B 133 ± 18.3 L CH_4 / d) ($P > 0.05$). La relación EM:ED, aunque fue cercano a lo establecido por sistemas energéticos internacionales, se encuentra por arriba del valor por defecto de 0.82 mencionado por el NRC, lo que sugiere la necesidad de generar valores acordes a las condiciones de la ganadería de México. Asimismo, la inclusión de una cantidad pequeña de concentrado mejoró la digestibilidad de la MS en la dieta A, haciendo más eficiente el uso de la energía por el animal. En el Exp. 2) Se evaluó el efecto antimetanogénico de *Cymbopogon citratus* (CC), *Matricaria chamomilla* (MC) y *Cosmos bipinnatus* (CB) en ganado bovino alimentado con una dieta de finalización compuesta de 19.4 % de inclusión de forraje y 80.6 % de

concentrado; sobre el CMS, DIG de la MS, de nutrientes (fibra detergente neutro [FDN] y ácido [FDA] y energía), el factor Ym, la producción diaria y rendimiento de metano. Para ello, se utilizaron 8 novillos Charolais × Pardo Suizo (350.4 ± 67 kg de peso vivo [PV]) distribuidos en un diseño de cuadrado latino (CL) 4×4 repetido dos veces, las dietas experimentales fueron: Dieta A) control (CO), Dieta B) CO + 365 g de MS / d de CB, Dieta C) CO + 365 g MS / d de MC y Dieta D) CO + 100 g MS / d de CC. Se observó que 100 g MS / d de CC y 365 g MS / d de CB redujeron el rendimiento de CH_4 (g CH_4 kg / CMS) ($P \leq 0.05$) en un 32.51% y 27.6% respectivamente, mientras que MC fue similar ($P > 0.05$) a la dieta CO. Asimismo, el factor Ym fue menor para las dietas con CC (3.38 %) y CB (3.62 %) con respecto a la dieta CO (5.02 %) ($P \leq 0.05$). Por los resultados prometedores obtenidos en el Exp. 2 con *C. citratus* (CC) el objetivo del Exp. 3) fue evaluar el efecto antimetanogénico de niveles crecientes de inclusión de esta planta en la dieta al 0% (CO), 2% de CC, 3% de CC y 4% de CC, en ganado bovino alimentado con una dieta mixta de forraje: concentrado (49.3: 50.7), sobre las mismas variables descritas para el Exp.2. Para este estudio se utilizaron 4 novillos Charolais × Pardo Suizo (458 ± 59 kg PV) distribuidos en un diseño de CL 4×4 . En este experimento se observó un efecto cuadrático a partir de la suplementación del 2 % de CC ($P \leq 0.05$), siendo éste el punto donde se observó la menor producción total diaria de CH_4 (g / d), sin embargo, siguieron la misma tendencia la digestibilidad de la MS, FDN, FDA y energía. Con la inclusión del 2 y 3% CC, se redujo la producción diaria de CH_4 (g / d) en un 26.97 y 26.29 % respectivamente, en comparación con la dieta CO. Para estos dos últimos experimentos, se concluyó que los efectos antimetanogénicos observados sobre el rendimiento y producción de CH_4 dependieron de las dietas y de la concentración de metabolitos secundarios (taninos condensados) de CC y CB. En general, concluimos que es necesario realizar más estudios de

este tipo utilizando diferentes forrajes, suplementos energéticos y aditivos que permitan encontrar combinaciones de ingredientes que hagan más eficiente el uso de la energía por los bovinos, reduciendo de esta forma, las pérdidas de energía en forma de metano y las emisiones de este gas hacia el medio ambiente.

Palabras clave: Digestibilidad, Factor Ym, metabolicidad, metano entérico, bovinos, mitigación, *Cosmos bipinnatus*, *Matricaria chamomilla*, *Cymbopogon citratus*.

Abstract

Knowing the transformations of the gross energy intake (GE_i) throughout its process in the ruminant, it is possible to look for alternatives of nutritional management reducing energy losses and increasing the amount of energy retained in the form of usable products such as milk or meat. In this sense, one of the determining factors of partition is the Y_m factor, which is the fraction of the gross energy (GE) of the food that is transformed into methane (CH₄). This gas is one of the final products of the fermentation of food in the rumen, also the fact that it is a loss of energy and contributes to greenhouse gas (GHG) emissions. Reducing its production would lead to more efficient use of GE_i that would be transformed into meat or milk and reduce CH₄ emissions to the environment. The CH₄ produced by enteric fermentation is of utmost relevance since by 2019, it contributed 27 % of the total produced by the agriculture, forestry and other land uses (AFOLU) sector. In turn, this sector represented 24 % of the total GHG produced worldwide. Within this framework, it is important to estimate under each country's conditions the energy needs of the animal and the capacity of the feed to satisfy them. It is also important to evaluate and implement feeding strategies that reduce CH₄ emissions enteric, which together would lead to a greater production of proteins of high biological value for humans. Therefore, we conducted three in vivo experiments. Exp. One. We use two open circuit respiration chambers to perform the following measurements: dry matter intake (DMI), the digestibility of the diets (DIG), the production and yield of CH₄, the partition of the GE_i, the energy density and metabolicity of the diets (qm factor), the metabolizable energy ratio (EM): digestible energy (ED) and the energy partition factor towards methane (Y_m factor). The four F1 heifers (Holstein × Charolais) used had a live weight of 206 ± 39.7 kg and 12 ± 0.93 months of age; distributed in a

completely randomized design with subsampling. We compared two type diets, both in common use in the temperate regions. Diet A had 74% corn silage plus 26% concentrate and diet B consisted of 100% corn silage. There were significant differences ($P \leq 0.05$) among diets for DMI, DIG, Ym factor, and methane yield ($\text{g CH}_4 / \text{kg DMI}$). Diet A presented higher DMI ($6.4 \pm 0.4 \text{ kg DM}$ and $74.7 \pm 0.05\%$, respectively) than diet B ($4.6 \pm 0.4 \text{ kg DM}$ and $57.7 \pm 0.03\%$). Methane yield and Ym factor of diet A were lower ($15.4 \pm 1.2 \text{ CH}_4 \text{ g / kg DMI}$ and $5.7 \pm 0.06\%$) than diet B ($20.7 \pm 3.2 \text{ CH}_4 \text{ g / kg DMI}$ and $7.4 \pm 1.2 \%$). The ME:ED ratio was higher in diet A (0.87 ± 0.02) than diet B (0.83 ± 0.03). The daily production of CH_4 was the same for both diets ($P > 0.05$). The ME:DE ratio, although it was close to that established by international energy systems, is above the default value of 0.82 mentioned by the NRC, which suggests the need to generate values according to the conditions of Mexican livestock. Likewise, the inclusion of a small amount of concentrate improved the digestibility of DM in diet A, making the use of energy by the animal more efficient.

Exp. Two. We measured the anti-methanogenic effect of *Cymbopogon citratus* (CC), *Matricaria chamomilla* (MC) and *Cosmos bipinnatus* (CB) on the DMI, DIG of the DM, of nutrients (fiber in neutral detergent [NDF] and acid [FDA] and energy), the Ym factor, the daily production and methane yield. Cattle ate a finishing diet with 19.4 % forage and 80.6 % concentrate. We assigned eight Charolais \times Brown Swiss steers into a twice replicated 4 x 4 latin square design (LSD). The experimental diets were: A) control (CO), B) CO + 365 g of DM / d CB, C) CO + 365 g DM / d MC and D) CO + 100 g DM / d CC. We found that 100 g DM / d CC and 365 g DM / d CB reduced the yield of CH_4 ($\text{g CH}_4 \text{ kg / DMI}$) ($P \leq 0.05$) by 32.51% and 27.6% respectively, while MC was not statistically different ($P > 0.05$) compared to diet CO. Likewise, the Ym factor was lower for the diets with CC (3.38 %) and CB (3.62 %) concerning the CO diet (5.02 %). Due to

the promising results obtained in Exp. two with *C. citratus* (CC), the objective of Exp. Three was to evaluate the anti-methanogenic effect of increasing levels of inclusion of this plant at 0 % (CO), 2 % CC, 3 % CC and 4 % CC, in cattle fed a mixed diet of forage: concentrated (49.3: 50.7), on the same variables described for Exp. Two. We used four Charolais × Brown Swiss steers randomly assigned into a 4 × 4 LSD design. The effect of the CC inclusion level was quadratic, with a minimum in CC 2% ($P \leq 0.05$). The inclusion of CC 2% and CC 3% CC reduced the daily production of CH₄ (g / d) by 26.97% and 26.29 % compared to the control diet. We concluded that the observed anti methanogenic effects on yield and production of CH₄ depended on the type of supplementary herb and the concentration of secondary metabolites like condensed tannins in *Cymbopogon citratus* and *Cosmos bipinnatus*. In general, we concluded that it is necessary to carry out more studies of this type using different forages, energy supplements and additives that allow finding combinations of ingredients that make the use of energy by cattle more efficient, reducing energy losses in the form of methane and emissions of this gas into the environment.

Key words: Digestibility, Ym factor, enteric methane, mitigation, cattle, *Cosmos bipinnatus*, *Matricaria chamomilla*, *Cymbopogon citratus*.

Lista de cuadros

Cuadro 1.1. Composición fitoquímica de <i>C. citratus</i>	38
Cuadro 2.1. Consumo, digestibilidad, producción de metano y partición de la energía bruta consumida en bovinos F1 alimentados con dos dietas.	47
Cuadro 2.2. Densidad energética y metabolicidad de las dietas experimentales.	48
Cuadro 3.1. Composición química de las dietas control y contenido de fenoles y taninos de las plantas utilizadas en los Experimentos 1 y 2 para reducir las emisiones de metano entérico en el ganado de carne.	58
Cuadro 3.2. Efectos de la suplementación con <i>Matricaria chamomilla</i> , <i>Cosmos bipinnatus</i> y <i>Cymbopogon citratus</i> sobre el consumo de materia seca, digestibilidad, ganancia diaria de peso y producción de metano en novillos F1 alimentados con una dieta de finalización en el Experimento 1.	60
Cuadro 3.3. Efectos de los niveles crecientes de suplementación con <i>Cymbopogon citratus</i> sobre el consumo de materia seca, digestibilidad, ganancia diaria de peso y producción de metano en novillos F1 alimentados con una ración mixta total en el Experimento 2.	61
Cuadro 4.1. Inventario de emisiones de metano por fermentación entérica de bovinos en México para el año 2018 y su incertidumbre asociada. Tomado de: Castelán-Ortega et al. (2019).	77

Lista de figuras

Figura 1.1. Equipo de cuantificación de metano: cámara de respiración de circuito abierto.	19
Figura 1.2. Flujo de la energía en el rumiante (Modificado de NRC 1981).	25
Figura 1.3. Representación esquemática de la influencia del nivel de alimentación en la partición de la EBi en ganado de carne consumiendo forraje de calidad media (Tomado de Ferrel & Oltjen, 2008)	26
Fig. 1.4. Representación esquemática de algunos procesos ruminales (Modificado de Buddle et al. 2011)	31
Figura 1.5. Opciones potenciales par la reducción de la producción de metano entérico. (Cottle et al. 2011)	34
Figura 4.1. Principales países generadores de gases de efecto invernadero. Modificado de WRI, 2017.	73
Figura 4.2. Regiones geo-climáticas de la República Mexicana empleadas en la elaboración del inventario de nivel Tier 2 de emisiones de metano por fermentación entérica del ganado bovino. Tomado de: Castelán-Ortega et al. (2019).	75
Figura 4.3. Diferentes sistemas de producción y alimentación del ganado bovino en México. (a) Pastoreo en las regiones de clima cálido sub-húmedo, (b) Producción intensiva de leche en la región de clima seco y c) Engorda intensiva en corrales en la región de clima muy seco.	76
Figura 4.4. Equipo de medición de emisiones de metano y cámaras de respiración de circuito abierto de la FMVZ-UAEMex.	77
Figura 4.5. Potreros inundados y vacas en el agua en Tizimín, Yucatán (impacto de la tormenta tropical Cristóbal en junio de 2020 en el sur de México).	78

Publicaciones y resúmenes en congresos

Artículos publicados

- Vázquez-Carrillo, M. F.; Montelongo-Pérez, H. D.; González-Ronquillo, M.; Castillo-Gallegos, E.; & Castelán-Ortega, O. A. 2021. Partición de la energía bruta consumida y el aporte de energía metabolizable en bovinos F1: Partición de la energía en bovinos. *Ecosistemas Y Recursos Agropecuarios*, 8(2). DOI: 10.19136/era.a8n2.2976
- Vázquez-Carrillo, M.F.; Montelongo-Pérez, H.D.; González-Ronquillo, M.; Castillo-Gallegos, E.; Castelán-Ortega, O.A. 2020. Effects of Three Herbs on Methane Emissions from Beef Cattle. *Animals* 10(9):1671. DOI: 10.3390/ani10091671
- Vázquez-Carrillo, M.F.; Ku-Vera, J.C.; González-Ronquillo, M.; Castillo-Gallegos, E.; Kebreab, E.; Castelán-Ortega, O.A. 2020. Emisiones de metano por fermentación entérica de la ganadería bovina de México: la importancia de contar con inventarios nacionales precisos y de estrategias viables de mitigación. *Elementos para Políticas Públicas* 4(1):13-28

Resúmenes en Congresos

- Vázquez-Carrillo M.F., Castillo-Gallegos E., Montelongo-Pérez H.D., Castelán-Ortega O.A. 2019. Estimación de la partición de la energía bruta consumida por bovinos a partir de la cuantificación de sus emisiones de metano/ Estimation of the partition of the gross energy intake in cattle through methane emissions quantification. XLVI Reunión Científica de la Asociación Mexicana para la Producción Animal y Seguridad Alimentaria, A. C.
- Vázquez-Carrillo M.F.; Montelongo-Pérez H.D.; González-Ronquillo M.; Castillo-Gallegos E. y Castelán-Ortega O.A. 2020. Efecto de tres plantas sobre las emisiones de metano por fermentación entérica en ganado bovino. XI Simposio Internacional del Carbono en México. Programa Mexicano del Carbono, Red temática del CONACyT.
- María Fernanda Vázquez-Carrillo, Hugo Daniel Montelongo-Pérez, Manuel González-Ronquillo, Epigmenio Castillo-Gallegos, Octavio Alonso Castelán-Ortega. 2021. Mitigating Methane Emissions from Enteric Fermentation in Beef Cattle Using Three Herbs. 7th North American Carbon Program, Open Science Meeting is "The Future is Here: North American carbon cycle science for a changed climate".

- Vázquez-Carrillo María F.; Montelongo-Pérez Hugo D.; González-Ronquillo Manuel; Castillo-Gallegos Epigmenio y Castelán-Ortega Octavio A. 2021. Efecto de la calidad de la dieta sobre la producción de metano entérico y la eficiencia en el uso de la energía en bovinos de carne. XII Simposio Internacional del Carbono en México. Programa Mexicano del Carbono, Red temática del CONACyT.
- María Fernanda Vázquez-Carrillo; Hugo Daniel Montelongo-Pérez; Manuel González-Ronquillo; Epigmenio Castillo-Gallegos y Octavio Alonso Castelán-Ortega. 2021. Desarrollo y evaluación de estrategias de mitigación de las emisiones de metano por fermentación entérica del ganado bovino. Cambio Climático. Cátedra CUMEX Medicina Veterinaria y Zootecnia "Dra. Aline Schunemann de Aluja"

Introducción

Los rumiantes mantienen una estrecha simbiosis con su microbiota ruminal (bacterias, arqueas, hongos, levaduras y protozoarios), la cual les proporciona energía resultado de la fermentación del alimento que consumen (carbohidratos, lípidos y proteínas), sin embargo, este proceso no es 100 % eficiente (Castillo-González et al. 2014), ya que existen pérdidas de energía, principalmente en forma de metano (CH_4), el cual puede llegar a cuantificarse hasta en un 12 % del total de la energía bruta consumida por el animal (Johnson & Johnson 1995); y además contribuye a las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI). En este contexto, conocer el estudio de la bioenergética animal y sus implicaciones, es una herramienta para comprender el metabolismo y la partición de la energía consumida, la transferencia y su utilización por el animal, esto ofrece la posibilidad de conocer los puntos específicos para implementar soluciones a las pérdidas de energía durante su flujo a través del animal, pudiendo dar como resultado un incremento en la producción neta de carne y leche de bovinos y contribuyendo en la reducción de las emisiones de GEI de este sector (Ferrel & Oltjen, 2008; Mendoza-Martínez et al. 2008, Aguilera 1991, Johnson et al. 2003). Con respecto a la mitigación de emisiones de GEI, actualmente existen diversas estrategias para reducir las emisiones de CH_4 entérico, por ejemplo, destacando últimamente el uso de plantas o extractos de las mismas, por su contenido de metabolitos secundarios como polifenoles, saponinas, aceites esenciales, los cuales son una propuesta natural y amigable con el medio ambiente (Ku-Vera et al. 2020). Estos compuestos actúan directa o indirectamente sobre los microorganismos ruminales, suprimiendo la población de protozoarios (Wallace et al. 2004; Patra et al. 2017), metanógenos totales (Bhatta et al. 2015; Castillejos et al. 2006), hongos (Castillejos 2005) o la actividad enzimática (Oskoueain et al. 2013) modificando la

fermentación ruminal (Bhatta 2015). La presente tesis, tuvo por objetivo abarcar las problemáticas anteriormente descritas, es decir evaluar cómo se particiona la energía consumida en el bovino, cuánta de esta energía se pierde en forma de CH_4 y finalmente, cómo se puede reducir esta pérdida a través de estrategias de alimentación basadas en el uso de planta taníferas. De esta forma, la presente tesis se divide en 5 Capítulos. El Capítulo I, aporta un panorama general de la bioenergética animal, la partición de la energía bruta consumida y el uso de plantas como estrategias de mitigación de metano entérico. El Capítulo II, describe el estudio realizado para estimar la partición de la energía bruta consumida de los bovinos bajo estudio y establece los requerimientos de energía metabolizable para dichos animales utilizando dos dietas representativas de una región templada de México, obteniendo valores de referencia como lo son el factor Y_m , factor q_m , y relaciones de EM:ED. El Capítulo III, desarrolla y evalúa la implementación del uso de tres plantas (*Cosmos bipinnatus*, *Cymbopogon citratus* y *Matricaria chamomilla*) en la dieta de bovinos F1, como estrategia de mitigación de CH_4 entérico. El Capítulo IV da una breve descripción de las investigaciones actuales en México enfocadas en la mitigación de metano entérico y enfatiza la importancia de contar con políticas públicas enfocadas en la reducción de estas emisiones. Finalmente, en el Capítulo V se discute y concluye con un enfoque general los Capítulos I al III.

Capítulo I

INTRODUCTORIO

1. Revisión de literatura

1.1. Bioenergética

La bioenergética se refiere al estudio de los procesos de transferencia de energía en los sistemas biológicos y de los mecanismos reguladores implicados en ella, ésta puede estudiarse en diversos contextos, específicamente en el campo de la nutrición el concepto se centra en la predicción de la demanda de energía del animal y en la capacidad de los alimentos para satisfacerla (Blaxter 1964). La importancia de su estudio radica en explicar su aparente fragmentación y disociación, la cual se rige por las leyes de la termodinámica; cuya primera ley enuncia que la energía no se crea ni se destruye solo se transforma (Ferrel & Oltjen, 2008; DeShazer & Yen 2009). La energía se conserva, cuando el calor fluye hacia un sistema, el sistema gana o pierde una cantidad de energía igual a la cantidad de calor transferido (Vázquez-Arteaga et al. 2020). La adición de calor logra una de dos cuestiones, aumentar la energía interna del sistema, o efectuar trabajo sobre las cosas externas al sistema (Hewitt 2007). Teóricamente, todo el universo sigue esta ley, y los rumiantes no son una excepción. Dentro del rumiante, entiéndase como un sistema, se debe de transformar la energía, misma que obtienen a partir de sus alimentos, de forma que la extraen, la concentran y la organizan para su sobrevivencia y producción (Ferranini 1988; DeShazer & Yen 2009). Sin embargo, en el propio tránsito de la misma, se va transformando en formas menos útiles para el animal, perdiéndose en forma de: heces, orina, gases y calor difundido al ambiente; todas éstas formas de energía se pueden convertir cuantitativamente en calor, lo cual corresponde a la segunda ley de la termodinámica: a medida que avanza la energía organizada tiende a la desorganización (entropía), es decir, no hay sistema totalmente eficiente para convertir el calor en trabajo, algo de calor suministrado al sistema se disipa

como calor de escape (Ferrannini 1988; Hewitt 2007; Ferrel & Oltjen 2008; Cengel et al. 2012; Old et al. 2018). En el caso que nos ocupa, la pérdida de calor del animal disminuirá su entropía, pero aumentará la entropía del entorno que le rodea, en caso de que la temperatura ambiental sea inferior a la temperatura corporal del animal (DeShazer & Yen 2009).

Para los organismos vivos la fuente primaria de energía es el sol; las plantas verdes convierten la energía luminosa en energía química y ésta al ser ingerida en forma de alimento, es un componente vital para las reacciones biológicas, se libera en el metabolismo (resultado de la fermentación y la oxidación de carbohidratos, grasas y proteínas) para permitir el trabajo osmótico, el transporte molecular, el trabajo mecánico, la síntesis de nuevas moléculas, la formación de energía eléctrica, entre otros procesos; lo cual se traduce en crecimiento, reproducción, producción de carne o leche, así como el calor residual (Blaxter 1964; DeShazer & Yen 2009). Cabe recalcar que la energía del alimento no es la única fuente de energía para el animal, existe por ejemplo la energía luminosa, las ondas sonoras, la radiación, las cuales se transforman a impulsos nerviosos y eléctricos, pero en relación con el transporte de energía que implican, son cuantitativamente insignificantes comparados con los mecanismos que involucran a la energía química del alimento (Blaxter 1964).

1.2. Calorimetría

La energía es una abstracción que solo puede ser medida en comparación con otra sustancia de referencia y en condiciones estandarizadas, y solo puede ser medida en su transformación de una forma a otra (NRC 1981). La unidad de medida es la caloría, la cual equivale a 4.184 julios y representa la cantidad de calor requerida para elevar la temperatura de 1 g de agua

de 16.5 a 17.5 °C a nivel del mar. Para realizar la medición de la energía en las reacciones, se hace uso de la calorimetría, la cual se basa en el principio de que el calor producido es el resultado de la oxidación completa de los compuestos orgánicos involucrados (Ferrannini 1988).

El calor producido (calor de combustión) durante la oxidación de un alimento se mide mediante un dispositivo adiabático, donde se coloca una cantidad de alimento de peso conocido en una bomba de metal en la que se inyecta oxígeno a presión (25-30 atm), la bomba se encuentra sumergida en una cantidad de agua de peso conocido y el alimento se quema por el calentamiento momentáneo de un alambre fino de platino. El incremento de temperatura del agua multiplicado por la capacidad calorífica del agua y de la bomba proporciona una medida de calor producido (Blaxter 1964). Este equipo conocido como bomba calorimétrica adiabática permitió determinar la cantidad de energía bruta de compuestos orgánicos, alimentos, heces y orina (Johnson et al. 2003). Las leyes de la termodinámica dictan que, si se mide el calor liberado de la oxidación total de 1 g de carbohidratos a CO₂ y H₂O en un dispositivo adiabático, el resultado será el mismo que el calor liberado cuando 1 g de ese carbohidrato es totalmente oxidado por un animal (Ferrel & Oltjen 2008).

Sin embargo, por razones técnicas no es fácil medir las transformaciones energéticas totales que ocurren en términos de energía libre en los animales (Blaxter 1964). La calorimetría animal es definida como la ciencia de la medición del calor transferido entre un animal y el medio ambiente (Nienaber et al. 2009); es por esto, que la medida del intercambio de energía en los animales se hace bajo la forma de variaciones de calor (Blaxter 1964). Para ello se recurre

al uso de técnicas calorimétricas mediante las cuales se puede estimar la energía suministrada por los alimentos y las necesidades energéticas del animal, en los procesos de mantenimiento, crecimiento, producción, lactación, gestación, entre otros (Church 1993). Las técnicas calorimétricas pueden ser directas o indirectas, éstas estiman la pérdida y producción de calor respectivamente (Ferrannini 1988; Nienaber et al. 2009).

La calorimetría directa se mide por métodos físicos; la pérdida de calor se cuantifica utilizando cámaras completamente aisladas, como una cámara de respiración o calorímetro de capa de gradiente, donde se puede medir el calor disipado por radiación, convección y conducción de la superficie corporal, así como por evaporación; estas cámaras poseen el mismo principio que un dispositivo adiabático, descrito anteriormente, donde el calor es colectado por algún medio, como el agua, a través del cual se mide el calor generado, estos dispositivos evitan que el animal gane o pierda calor del exterior (Ferrannini 1988; Nienaber et al. 2009; Criscioni 2012).

La calorimetría indirecta es considerada por Ferrannini (1988) no solo como un método de investigación, sino como una teoría, ya que utiliza modelos y supuestos, y puede ser combinada con otros métodos experimentales para investigar aspectos de la nutrición y del metabolismo. Se basa en el principio de que el calor de producción metabólico puede estimarse a partir del consumo de oxígeno (O_2), la producción de dióxido de carbono (CO_2), la producción de metano (CH_4), y la excreción de nitrógeno (N) en orina y heces; mediante Brower (1965) (Ecuación 1):

$$H = 16.1 \times (O_2) + 5.02 \times (CO_2) - 5.99 \times (Nu) - 2.17 \times (CH_4)$$

Donde: H es calor producido en kJ, O_2 , CO_2 y CH_4 son en litros y Nu es nitrógeno urinario en gramos.

Esto implica que el calor liberado por los procesos químicos dentro del organismo puede ser calculado a partir de la tasa de consumo de O_2 ; suponiendo que todo el O_2 es utilizado en la oxidación de los sustratos degradables y que todo el CO_2 producido es recuperado; entonces, es posible calcular el total de energía producida (Nienaber et al. 2009; Criscioni 2012), esta relación se conoce como cociente respiratorio (CR). El CR refleja las sustancias que se están metabolizando, por ejemplo, 1.0 para carbohidratos, 0.8 para proteínas y 0.7 para grasas (Nienaber et al. 2009). Para realizar estas mediciones, se hace uso de cámaras de respiración: de circuito abierto y de circuito cerrado (Cersosimo & Wright 2015), se pueden utilizar cámaras enteras (Figura 1.1), cajas de cabeza o máscaras de cabeza, como las descritas por E Silva-Reis et al. (2018) y Castelán-Ortega et al. (2020), en estos se mide la concentración de O_2 , CO_2 y CH_4 , una vez cuantificadas las concentraciones la pérdida de calor se puede calcular mediante la Ecuación 1 (E Silva-Reis et al. 2018).

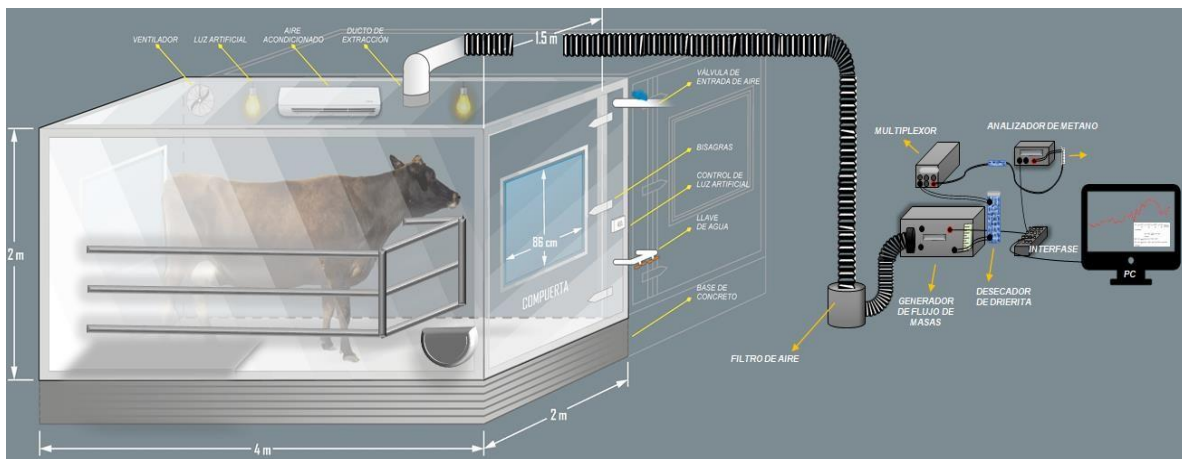


Figura 1.1. Cámara de respiración de circuito abierto.

Mediante el uso de esta tecnología, basados en los principios de la calorimetría animal, es como se han desarrollado los distintos sistemas energéticos que actualmente se utilizan para

definir los requerimientos de bovinos y formular dietas para su alimentación (Ferrel & Oltjen 2008).

1.3. Partición de la energía bruta consumida por el rumiante

1.3.1. Energía Bruta

El calor de combustión también llamado energía bruta (EB) es la energía que se libera en forma de calor cuando una sustancia orgánica se oxida completamente a CO₂ y H₂O (NRC 1981), también definida como la suma de los valores energéticos de todos sus constituyentes, esta expresión representa la energía química almacenada en la celulosa, hemicelulosa, almidón, aminoácidos y ácidos grasos (Ku-Vera 2014). Así es como la EB de los alimentos se relaciona con su composición proximal según se muestra en la Ecuación 2 (Nehring y Haenlein 1973):

$$EB = 5.72 (PC) + 9.5 (EE) + 4.79 (FC) + 4.03 (ELN)$$

Ecuación 2

Donde: EB es la energía bruta, PC es la proteína cruda, EE es el extracto etéreo, FC es la fibra cruda y ELN son los elementos libres de nitrógeno, en porcentaje.

Los carbohidratos son la fracción en mayor proporción en los alimentos, y estos tienen un valor energético aproximado de 17.5 MJ / kg MS (NRC 1981; MAFF 1984), es decir, que la mayoría de los alimentos oscilarían alrededor de este valor, un valor energético superior indicaría la presencia de proteínas o lípidos, mientras que un valor más bajo (inferior) podría explicarse por la presencia de grandes cantidades de sustancias inorgánicas (NRC 1981). Es importante resaltar que el valor de EB no es representativo del valor nutritivo de la dieta o ingrediente, es necesario conocer cómo se digiere y fracciona a través de su flujo en el animal (NRC 1981). La eficiencia de su utilización dependerá de la interacción de las características

físicas y químicas del alimento, el proceso digestivo y el metabolismo de los nutrimentos asociado con el mantenimiento y crecimiento del animal (Ku-Vera 2014).

1.3.2. Energía Digestible

Una fracción de la EB del alimento es eliminada por las heces, esta corresponde a una parte que no es digerida y por tanto no se encuentra disponible para el animal. La diferencia entre la EB del alimento y la eliminada con las heces, es la energía digestible (ED) (MAFF 1984). De acuerdo con esta relación, todos aquellos factores en la alimentación de los bovinos que afecten la digestibilidad, van a impactar directamente en el consumo de ED (Mendoza-Martínez et al. 2008). La energía digestible tiene la ventaja de su fácil medición y asume que toda la energía del alimento que no aparezca en las heces, es digerida y absorbida por el animal y que toda la energía de las heces proviene del alimento, lo cual no es estrictamente correcto, por cual, lo correcto es denominarla como ED aparente (Díaz 1978).

1.3.3. Energía Metabolizable y el Incremento Calórico

Otra fracción perdida se encuentra en los gases producto de la fermentación ruminal, en su mayoría metano (CH_4) (MAFF 1984); la cual se estima es hasta el 12 % del total de la EB ingerida (EBi) reduciendo directamente la eficiencia del uso de la energía de la dieta consumida (Johnson & Johnson 1995), a este valor de conversión se le conoce como factor Y_m , y se encuentra determinado, principalmente, por características propias del alimento, del animal y su interacción (IPCC 2006). El factor Y_m destaca en su importancia, dado que son valores específicos de cada país, y uno de los principales determinantes para el cálculo de los inventarios nacionales precisos de metano entérico como gas de efecto invernadero (Kaewpila & Sommart 2016). La orina representa otra pérdida de energía, la cual contiene productos orgánicos de desecho (compuestos absorbidos no utilizados de los alimentos,

productos finales de procesos metabólicos y productos finales de origen endógeno) y ya no tiene más uso directo para el animal (MAFF 1984; NRC 1981). Es de esta forma, como la diferencia de la ED menos las pérdidas de energía en forma de CH₄ y orina da lugar a la energía metabolizable (EM); la cual es considerada una valoración de la energía dietética disponible para los tejidos del animal (AFRC 1993; NRC 1981; NASEM 2000; MAFF 1984).

Las pérdidas de energía en forma de orina y gases presentan una elevada posibilidad de predicción de la EM a partir de la ED, por lo que existe una buena correlación entre los valores de ED y EM (EM:ED) de los alimentos o ración, por ejemplo: 0.81 (CSIRO 2007), 0.82 (NASEM 2000) y 0.81-0.86 (AFRC 1993). Esta cifra, dependerá directamente de la calidad del alimento en cuestión, la tasa de crecimiento microbiano en el rumen, producción de metano, relación entre energía y proteína en la dieta y entre otros (E Silva-Reis et al. 2018). Dentro de este contexto, es posible entonces, definir la capacidad de los alimentos para satisfacer las necesidades energéticas del animal, como la metabolibilidad del alimento, conocido como factor qm, el cual es la proporción de la EB del alimento que es EM (AFRC 1993). La metabolibilidad se encuentra determinada principalmente por la digestibilidad del alimento, por ejemplo, las raciones con alta digestibilidad se utilizan más eficazmente que las de escasa digestibilidad (Blaxter 1964). La eficiencia con la cual el rumiante utiliza la EM, depende de la fuente de alimentación, el nivel de consumo y la función para la que es utilizada por el animal (Ferrel & Oltjen 2008), así como del incremento calórico (IC) de alimentación, el cual puede definirse como el aumento de la producción de calor del animal por cada unidad de aumento en el consumo de EM (Ku-Vera 1995), siendo una pérdida inevitable de la energía del alimento. En rumiantes, es principalmente el resultado del consumo y utilización de un

alimento (rumia), calor de fermentación ruminal, ineficiencia en la utilización de nutrimentos absorbidos a nivel celular y pérdidas que se originan en las vísceras que son drenadas por la vena porta (MAFF 1984; Ku-Vera 1995). Es por lo anterior, que la EM se ha convertido en el punto de partida para el desarrollo de sistemas de alimentación basados en energía neta (Ferrel & Oltjen, 2008).

Las ecuaciones y el balance de energía indican que la EM puede aparecer solo en dos formas, como calor producido (CP) o como energía retenida (ER) (NRC 1981; Ferrel & Oltjen, 2008), como se muestra en la siguiente igualdad.

$$EM = CP + ER$$

Donde: EM es la energía consumida por el animal que no es excretada en heces, orina o en gases. CP es la cantidad de energía que se transfiere del animal al medio ambiente, resultado del metabolismo en ayuno, actividad voluntaria, formación de producto, regulación térmica, digestión, fermentación y formación y excreción de desechos (NRC 1981). La ER es la energía retenida, energía depositada en los tejidos o producto animal.

En un animal en crecimiento la ER es la acumulada en el tejido corporal, en el resto se refiere a cualquier producto neto de utilización de energía (Old et al. 2018).

1.3.4. Energía Neta

Para rumiantes y herbívoros no rumiantes se usa la energía neta (EN) en lugar de EM para evaluar sus requerimientos energéticos (DeShazer & Yen 2009). La EN esta relacionada con el CP, la EM y la ER. El NASEM (2000) lo define como el cambio en la ER al cambio en la ingesta de EB (EBi), como se muestra en la igualdad siguiente:

$$EN = ER / EBi$$

Donde: EN es la energía neta, ER es la energía retenida, energía depositada en los tejidos o producto animal.

La EN es la parte de la energía del alimento que es digerida y utilizada por el animal para cubrir los requerimientos de energía para el mantenimiento y producción (Ku-Vera 1995). La EN en el producto, puede identificarse como proteína corporal, grasa corporal, leche, pelo, etc., por consiguiente, el contenido de EN de un producto animal es numéricamente igual a su valor energético (EB) (AFRC 1993; Ferrel & Oltjen, 2008).

Así, la bioenergética en el rumiante, definida por las leyes de la termodinámica, puede establecerse mediante la siguiente igualdad (NRC 1981):

$$EBi = Eh + E_{CH_4} + Eo + CP + ER$$

Donde: EBi es la energía bruta ingerida, Eh es la energía contenida en heces, E_{CH_4} es la energía del metano, Eo es la energía en orina, CP es el calor producido y ER es la energía retenida.

Esta igualdad reparte el consumo energético del animal en los principales componentes asociados a la energética animal (NRC 1981, Church 1993). Es de esta forma como se puede desglosar el flujo de la energía en el rumiante de la siguiente manera (Figura 1.2):

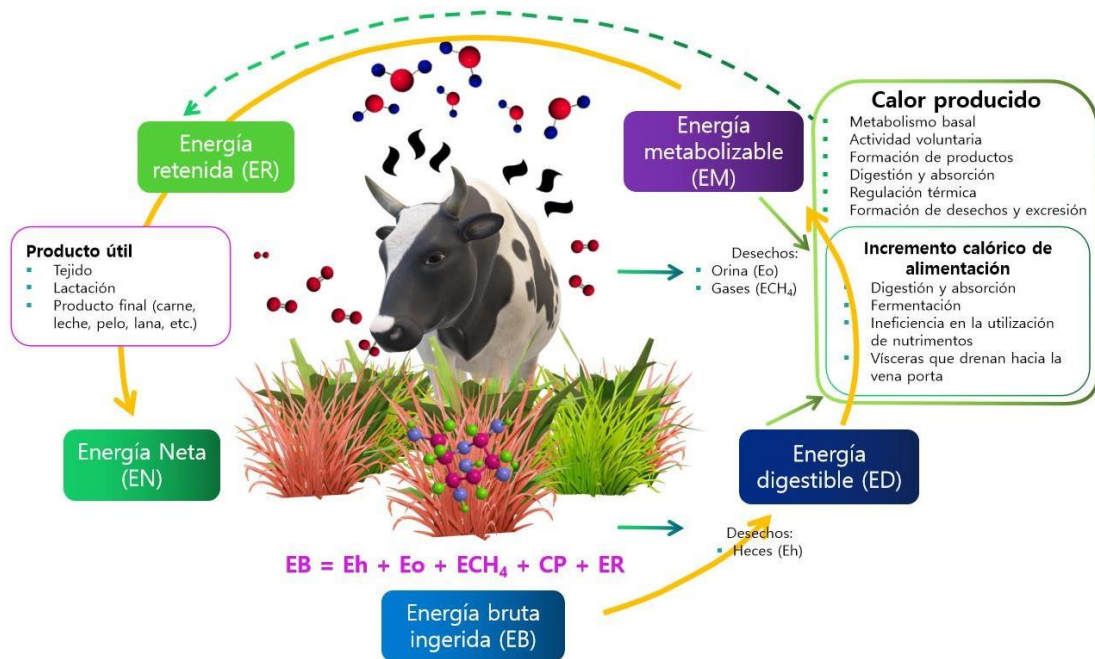


Figura 1.2. Flujo de la energía en el rumiante (Modificado de NRC 1981).

Es importante identificar las etapas donde se puede reducir la pérdida de energía, para tratar de obtener mayor beneficio de los bovinos y sus productos (Mendoza-Martínez et al. 2008). Las mayores pérdidas de energía son en forma de heces y producción de calor, respecto a la ER, la cual constituye una proporción relativamente pequeña (generalmente < 20 % en ganado de carne) de la EBi (Ferrel & Oltjen 2008) (Figura 1.3).

1.4. La importancia de un sistema energético propio

En la actualidad se cuenta con diferentes sistemas de alimentación (SA), por mencionar algunos, entre los más utilizados a nivel mundial se encuentran: Agricultural Research Council (ARC) y Agricultural and Food Research Council (AFRC) del Reino Unido, National Research Council (NRC) de los Estados Unidos, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization (CSIRO) de Australia, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) de Francia, todos los cuales se caracterizan por ser modelos nutricionales estáticos y basados en modelos determinísticos (Tedeschi 2019). Estos sistemas son utilizados para la formulación de raciones, determinando la valoración química de los alimentos y utilización digestiva y metabólica de nutrientes (Johnson et al. 2003). Como punto de partida los SA se basan en la EM para el cálculo de los requerimientos de los rumiantes, por ejemplo, el sistema de energía neta o Sistema California (Lofgreen & Garret 1968; NASEM 2010) representa el fenómeno biológico del crecimiento por considerar que la energía es usada en forma primordial para mantenimiento y posteriormente para ganancia o producción; este se encuentra basado en conceptos de EN derivados de ecuaciones a partir de la EM (Sainz et al. 1994; Ferrel & Oltjen, 2008). El AFRC (1993) y CSIRO (2007) se basan en la energía metabolizable, y consideran la metabolicidad de la dieta y coeficientes de conversión hacia EN (Sainz et al. 1994). El ARC (1980) en sus inicios, utilizó como referencia los valores de EM para la estimación de la eficiencia del uso de EM para diferentes etapas fisiológicas del bovino (mantenimiento, crecimiento, gestación, lactación), para posteriormente incorporar ajustes basados en el nivel de alimentación y la densidad energética de la dieta (Ferrel & Oltjen, 2008).

Con el paso del tiempo, los modelos se han revisado y modificado acorde a problemas de producción específicos, de esta forma han incluido submodelos nuevos, lo cual conduce a

muchos modelos derivados (Tedeschi 2019). A pesar de las diversas modificaciones realizadas en reconocimiento de que los requerimientos de los animales no son estáticos sino dinámicos y varían en respuesta a cambios ambientales, fisiológicos y genotípicos, es probable que no sean aplicables fuera de las condiciones originales para los que fueron desarrollados, y que no solo sea cuestión de añadir factores a la modelación como se supone en principio (Ferrel & Oltjen 2008). Esto es porque dichos sistemas fueron realizados en condiciones medioambientales, con alimentos y animales de características específicas de su lugar de origen. Es sabido que la composición de los nutrientes y el valor energético de los alimentos varía ampliamente de acuerdo a las diferencias genéticas de la planta, dadas por factores como el manejo y la región climática en la que se encuentren (Lee et al. 2017; Lee 2018); asimismo, el genotipo, el sexo y el peso de los animales influye en la eficiencia de la utilización de la energía (Ibidhi et al. 2021), cada uno de estos factores más sus interacciones, hace que los SA difícilmente puedan modificarse para su uso en condiciones diferentes (Sainz et al. 1994), es por lo mismo que a la fecha no es posible tener un sistema de alimentación mundial, por las diferencias y particularidades de cada región.

El NRC se fue convirtiendo en uno de los principales SA usados por investigadores y representantes de la industria a medida que fue modificándose e incorporando más factores a su modelación, aparentemente es uno de los modelos más satisfactorios para el ganado en crecimiento y finalización, pero altamente irregular para ganado en pastoreo (Petersen et al. 2014). Actualmente la mayoría de las necesidades de EN de este SA se calcula a partir de la correlación que existe entre EM:ED (ej. NRC 0.82), Tedeschi et al. (2017) y Tedeschi (2019) mencionan las limitaciones y problemas asociados con este factor de conversión fijo y

antiguo, indican que una proporción fija de ED a EM es una simplificación excesiva y no representa la diversidad de la materia prima existente. Ibidhi et al. (2021) apoyan lo anterior, sugiriendo que dicho valor no representa la diversidad de alimentos regionales y de razas de bovinos de carne. Dicho factor puede variar considerablemente entre ingredientes y dietas (Galyean et al. 2016). Algunas de estas inconsistencias de este SA se heredaron debido a limitaciones en los métodos empleados para medir los datos requeridos, soluciones a estas limitaciones podría requerir cambios de procedimiento en los métodos y cantidades considerables de nuevos datos (Tedeschi 2019). Es por lo anterior, que el uso de valores de referencia desarrollados en condiciones diferentes a la de nuestro país, podría caer en una sub o sobreestimación de los requerimientos energéticos de ganado de carne nacional. Es importante satisfacer las necesidades de nutrientes del ganado para evitar el desperdicio resultante de la sobrealimentación, y de esta manera controlar y reducir los costos de producción (Block et al. 2010).

En México existen diferentes sistemas de producción, que van desde la ganadería de traspatio, hasta sistemas con un alto grado de tecnificación; definidos por una gran diversidad de componentes, entre ellos la genética animal, la región bioclimática y el tipo de alimentación; ya que aproximadamente la mitad del país se encuentra en la región intertropical y la otra mitad en el hemisferio norte del planeta (Améndola et al. 2005, Mendoza-Martínez et al. 2008; Castelán-Ortega et al. 2019). Por lo tanto, no existe duda que la disponibilidad de la energía de las plantas para los bovinos en función de su sitio de crecimiento (Lee et al. 2017) impacta en la eficiencia de utilización de la energía de los alimentos, en los requerimientos de energía, y sobre la producción de carne o leche

(Améndola et al. 2005, Lee 2018). Además, existe la variabilidad individual del animal, generada por la raza, sexo, peso y estado fisiológico del animal (NASEM 2000; Johnson et al. 2003; Ibidhi et al. 2021) y como se mencionó anteriormente, la composición de los nutrientes y el valor energético de los alimentos varía ampliamente de acuerdo a las diferencias genéticas de la planta, dadas por factores como el manejo y la región climática en la que se encuentren (Lee 2018).

Recientemente, diversos autores (Johnson et al. 2003; Ferrel & Oltjen 2008; Block et al. 2010; Petersen et al. 2014; Galyean et al. 2016; Kaewpila & Sommart 2016; Old et al. 2018; Da Fonseca et al. 2019; Ibidhi et al. 2021, Vázquez-Carrillo et al. 2021) han explicado la importancia del desarrollo de valores de referencia para el desarrollo de un sistema energético propio para cada país, dadas las particularidades de cada región y los diversos factores que influyen en el cálculo de los requerimientos del ganado bovino.

1.5. El metano entérico como pérdida de energía y su papel como gas de efecto invernadero

El CH₄ es uno de los subproductos que resulta de la fermentación de los carbohidratos del alimento ingerido por el rumiante. El H₂ liberado por los microorganismos ruminales durante la fermentación es utilizado por las arqueas metanogénicas para reducir el CO₂ y formar energía para su crecimiento, produciendo CH₄ como subproducto metabólico de la siguiente manera (Popova et al. 2011; Naumman et al. 2017):



Este proceso funciona como sumidero de H₂, al reducir su acumulación en el rumen, y evitando de esta manera trastornos digestivos y metabólicos en el animal (Benaouda et al.

2018; Ku-Vera et al. 2020). Aunque la producción de CH₄ esta modulada principalmente por los metanógenos, también influye la interacción con el resto de los microorganismos del rumen (Popova et al. 2011). Por ejemplo, existe una estrecha simbiosis entre arqueas metanogénicas y protozoarios ciliados, esta asociación facilita la transferencia de H₂ entre dichas especies (Vogels et al. 1980; Hook et al. 2010). También, el tipo de carbohidratos en la dieta puede definir el tipo de fermentación y por ende la cantidad de CH₄ entérico producido por el animal, los carbohidratos estructurales de los forrajes agrupados en la porción conocida como fibra detergente neutro (FDN) dirigen la fermentación ruminal a una de tipo acética, donde teóricamente se liberan ocho iones de hidrógeno por cada mol de acetato producido, mientras que una fermentación de tipo propiónica, dada por una dieta mayoritaria en alimentos concentrados, los captura para su producción (Johnson & Johnson 1995; Moss & Givens 2002) (Figura 1.4).

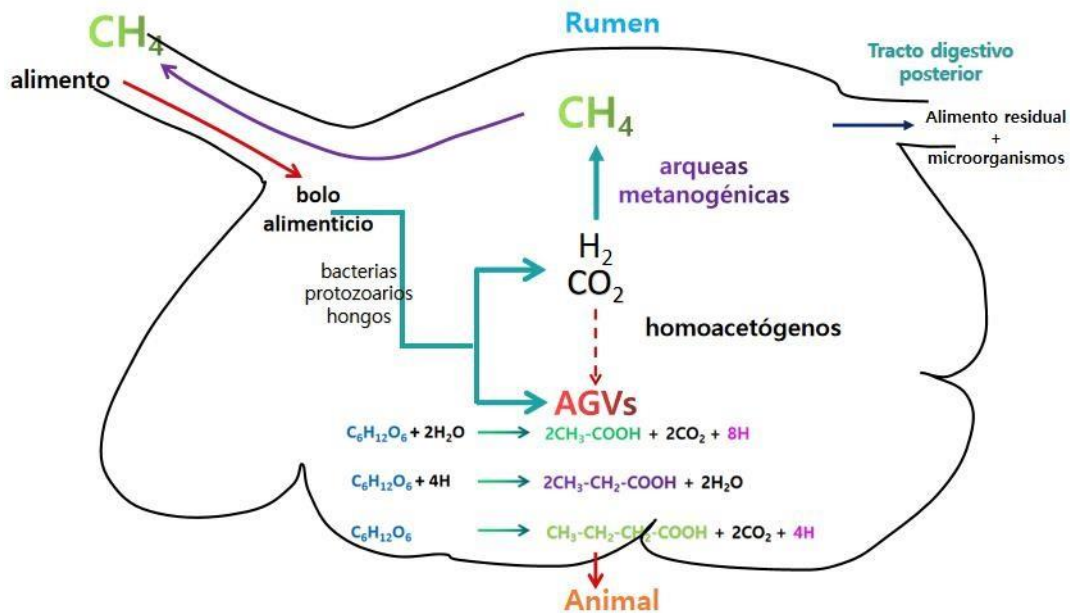


Fig. 1.4. Representación esquemática de algunos procesos ruminales, destacando la fermentación microbiana (flechas gruesas y azules) del alimento ingerido a AGVs (principalmente acético, propiónico y butírico) e H₂ y CO₂. Los AGVs se absorben a través de la pared del rumen y actúan como una fuente importante de carbono y energía para el bovino. Se postula que los homoacetógenos, que forman acetato a partir de H₂, podrían

convertirse en un sumidero significativo de hidrógeno en ausencia de metanógenos (flecha punteada). (Buddle et al. 2011)

Esta producción de CH₄ representa una pérdida energética para el animal, que puede llegar a representar hasta el 12 % de la EBi (Johnson & Johnson 1995), es de suma relevancia ya que el ganado lo produce en grandes volúmenes aunado a que es un gas de efecto invernadero (GEI) que contribuye al cambio climático. El CH₄, tiene un potencial de calentamiento global 28 veces más potente que el CO₂ (Myhre et al. 2013), pero con una vida media en la atmósfera corta, de 9 a 15 años, comparada con el CO₂ que puede llegar permanecer en la atmósfera hasta por 200 años (Eckard et al. 2010). En este sentido, el reducir las emisiones de CH₄ entérico podría apreciarse en corto-mediano plazo. A nivel mundial, las emisiones de CH₄ entérico representan alrededor del 3 al 5% de las emisiones totales de GEI (Smith et al. 2014). Para el año 2019, el CH₄ entérico contribuía con el 27% del total producido por el sector de agricultura, silvicultura y otros usos de la tierra (AFOLU, por sus siglas en inglés) y a su vez dicho sector representaba el 24% del total de GEI producidos mundialmente (USEPA 2019). México, en el año 2017, se encontraba dentro de los 10 países con mayor producción de GEI, contribuyendo con el 1.68 % de las emisiones globales, y se situó en el octavo lugar de los países emisores de metano a nivel mundial (WRI 2017), contribuyendo con 2039.21 ± 205.5 Gg CH₄ producido por fermentación entérica (Castelán-Ortega et al. 2019) para una población de 31 891 880 cabezas de ganado bovino registradas por el Padrón Ganadero Nacional del 2016.

Por lo tanto, el estudio del metabolismo y de la partición de la EBi por el bovino, ofrecen la posibilidad de manipular la fermentación ruminal y dirigirla hacia la formación de sustratos usualmente limitantes de procesos productivos específicos, como vía para incrementar la

eficiencia energética (Aguilera 1991) y disminuyendo las pérdidas de energía, como el CH₄, siendo necesario la implementación de estrategias dietéticas para disminuir las emisiones y por consiguiente aumentar la eficiencia del uso de la energía alimentaria en el rumiante, lo cual se traduciría en una mayor producción de producto cárnico o lácteo (Zhang et al. 2021).

1.6. Uso de plantas o extractos como estrategia de mitigación de metano entérico

Se han evaluado diferentes estrategias para disminuir la producción (g CH₄ / día) o rendimiento de metano (g CH₄ kg/ CMS) entérico (Figura 1.5). Algunas de estas opciones no resultan viables dependiendo el contexto en el que se utilicen, por ejemplo, el uso de concentrado para mitigar las emisiones de metano, no es una alternativa posible en diversas áreas del mundo, debido al alto precio de los cereales y su competencia con la alimentación humana (Bhatta 2015), la inclusión de compuestos químicos ha resultado controversial por los efectos adversos que puede causar al animal, como intoxicación o envenenamiento en el caso de los nitratos (Patra & Yu 2012), el uso de antibióticos se enfrenta a una aceptación social reducida debido a la aparición de residuos y cepas de bacterias resistentes (Nanon et al. 2014). Es por lo anterior, que en estudios recientes se han enfocado en una alternativa natural y amigable con el medio ambiente, como la incorporación de plantas o extractos en la alimentación animal (Patra & Yu 2012; Bhatta 2015). Estas plantas se caracterizan por su alto contenido de metabolitos secundarios (compuestos bioactivos) como: taninos condensados, aceites esenciales (AEs), saponinas y flavonoides (Ku-Vera et al. 2020). Los metabolitos secundarios tienen la capacidad de reducir la síntesis de CH₄ (Patra & Yu 2012; Knapp et al. 2014) actuando directa o indirectamente sobre los microorganismos ruminales, suprimiendo la población de protozoarios (Wallace et al. 2004; Patra et al. 2017),

metanógenos totales (Bhatta 2015), hongos (Castillejos 2005) o la actividad enzimática (Oskoueain et al. 2013), reduciendo la digestibilidad de la materia orgánica y modificando la fermentación ruminal (Castillejos et al. 2006; Bhatta 2015).

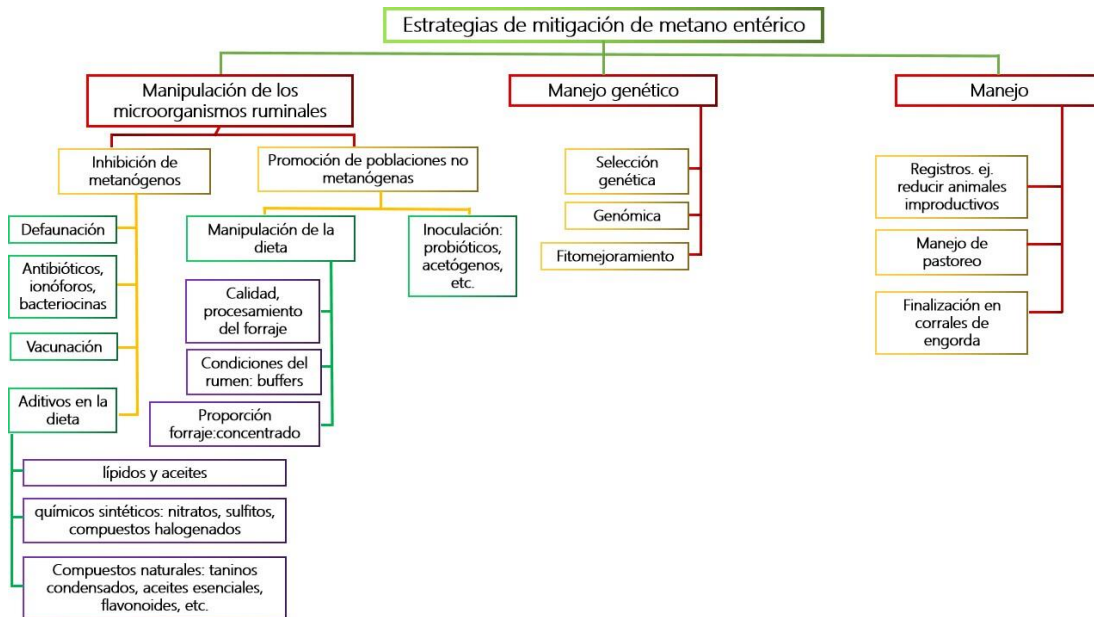


Figura 1.5. Opciones potenciales para la reducción de la producción de metano entérico. (Cottle et al. 2011)

1.6.1. Taninos Condensados

Los taninos condensados (TC) son compuestos polifenólicos, con peso molecular y complejidad variables y de característica astringente, lo cual los ha posicionado como un compuesto antinutricional, ya que reduce el consumo y en consecuencia el rendimiento animal (Naumman et al. 2017). Sin embargo, se ha observado que los rumiantes pueden tolerar estos compuestos, mediante la liberación de proteínas salivales de unión a TC o a la adaptación gradual de la microbiota ruminal. La capacidad de unión proteína-TC tiene algunos beneficios para el rumiante debido a los complejos formados con aminoácidos esenciales, establecen enlaces de hidrógeno estables en un pH de 3.5-8, lo que evita su degradación en el rumen, y que ocasiona que se disocien en el tracto posterior siendo

absorbidos directamente por el animal (Frutos et al. 2004; Naumman et al. 2017), lo cual diversos autores han reportado en un mayor rendimiento animal, aumentando la producción de carne o leche (Frutos et al. 2004; Cardoso-Gutiérrez 2021).

Existen diversas teorías sobre los efectos antimetanogénicos de los TC, Ng et al. (2016), informaron la existencia de una adhesina a base de proteínas ubicado en la fimbrias de que facilitan la simbiosis entre arqueas metanogénicas y protozoarios, además partes de la envoltura celular también contiene proteínas, lo cual puede facilitar la unión de TC a dichas estructuras interfiriendo en la simbiosis e inhibiendo o reduciendo la transferencia de H_2 entre protozoarios-arqueas, afectando negativamente la población de protozoarios ciliados y arqueas metanogénicas (Guyader et al. 2014; Naumman et al. 2017). Otra hipótesis es que producen una inhibición indirecta, al disminuir la disponibilidad de nutrientes, mediante la privación de sustrato, inhibición enzimática o como agentes quelantes, disminuyendo la adherencia de los microorganismos del rumen a las paredes celulares de las plantas, inhibiendo enzimas fibrolíticas como hemicelulasas y celulasas o reduciendo la disponibilidad de ciertos iones metálicos necesarios para el metabolismo de los microorganismos del rumen, respectivamente (Frutos et al. 2004). Becker et al. (2014) reportaron un efecto lineal al incluir catequina flaval-3-ol sobre la producción de CH_4 in vitro, observaron que hasta 6 átomos de hidrógeno fueron captados por cada molécula de catequina, actuando como sumidero de H_2 .

1.6.2. Aceites esenciales

Los aceites esenciales (AEs) son extractos concentrados de compuestos aromáticos volátiles producidos por diferentes especies de plantas, estos pueden variar en estructuras químicas y estereoquímica, así como en actividades bioactivas (Patra & Yu 2012). Se obtienen por

destilación o extracción con solventes orgánicos; son de carácter lipofílico e interactúan con las membranas celulares de las bacterias alterando su permeabilidad y provocando su desestabilización, ocasionando la coagulación del citoplasma, debido al flujo de hidrogeniones intracelulares que dan como resultado la inmovilidad y la mortalidad de la célula bacteriana (Haque et al. 2018) especialmente a las bacterias Gram+ por la estructura lipofílica de su membrana celular (Popova et al. 2011; Castilejos 2015). Patra & Yu 2012 reportaron que los AEs tienen un efecto variable sobre las poblaciones microbianas del rumen y la fermentación, sugieren que un solo AE a una dosis baja no tendría un efecto significativo sobre la producción de metano en el rumen, sin embargo, una combinación de varios AE en dosis bajas o una combinación de AE con otros agentes antimetanogénicos podría ser eficaz para mitigar la emisión de CH₄. Bhatta (2015) menciona que puede tener un efecto antimetanogénico sin afectar la digestibilidad de la materia seca y nutrientes, debido a la inhibición directa de metanógenos, al contrario que Nanon et al. (2014) quienes demuestran que el uso de AEs puede alterar la fermentación ruminal y la utilización de nutrientes en rumiantes.

1.6.3. Saponinas

Son glucósidos de esteroides o de terpenoides de alto peso molecular. Cada molécula está constituida por un elemento soluble en agua y un elemento soluble en lípidos, característica que les confiere actuar como detergentes naturales (Popova et al. 2011). Tienen un efecto tóxico debido a la formación de complejos con esteroides, provocando la ruptura de membranas celulares. Plantas con alto contenido de saponinas han demostrado tener un efecto antimetanogénico in vitro e in vivo (Bhatta 2015), principalmente se ha observado un efecto sobre los protozoarios ciliados, el cual puede explicarse por la presencia de esteroides

en las membranas de estos microorganismos, provocando la ruptura o alterando la permeabilidad membranal (Wallace 2004, Beauchemin 2009). Sin embargo, los efectos de algunas saponinas son transitorios, porque las bacterias hidrolizan las saponinas a sus sapogeninas que son mucho menos tóxicas para los protozoarios (Newbold et al. 1997; Wallace 2004).

1.6.4. Flavonoides

Son compuestos polifenólicos solubles en agua, están implicados en interacciones directas con el transporte y se ha observado en la interacción planta-microorganismo, donde tienen el papel principal como molécula señal repelente o atrayente de bacterias patógenas o benéficas, respectivamente (Galicia-Jiménez et al. 2011). Se ha observado que tienen efecto sobre los protozoarios ciliados, bacterias y metanógenos totales, inhibiendo la membrana plasmática, la síntesis de pared celular bacteriana o la de ácido nucleico (Oskoueian et al. 2013). Asimismo, se ha propuesto la incorporación de flavonoides en las raciones de rumiantes para mejorar la productividad mediante un aumento en la producción de propionato en relación con el acetato.

Por las diversas propiedades de los metabolitos secundarios de las plantas, es que actualmente se han realizado diversos estudios que demuestran resultados favorables en el uso de plantas o extractos, para reducir las emisiones de CH₄, por citar algunos: *Leucaena leucocephala* (Piñeiro-Vázquez et al. 2017), *Samanea saman* (Valencia-Salazar et al. 2017), *Dolichos labla* (Abdalla et al. 2012), *Mangosteen peel* (Wanapat et al. 2014) *Thevetia peruviana*, *Persea americana* (Orozco-Durán et al. 2016), *Cosmos bipinatus* (Hernández-Pineda et al. 2018), *Enterolobium cyclocarpum* (Molina-Botero et al. 2019) y *Cymbopogon citratus*.

1.6.5. *Cymbopogon citratus*

Cymbopogon es una gramínea perenne, perteneciente a la familia Poaceae, este género comprende alrededor de 140 especies (Ganjewala 2009) y tiene una extensa distribución en todo el mundo (Avoseh et al. 2015), principalmente en las regiones semi-templadas y tropicales de los continentes asiático, americano y africano (Ranade et al. 2015; Dutta et al. 2016), por su habilidad de crecer en condiciones climáticas moderadas y extremas (Padalia et al. 2011). Es cultivada sobre un área de 16 000 ha a nivel mundial, produciendo alrededor de 1 000 ton de aceites esenciales por año (Haque et al. 2018). Su composición fitoquímica comprende: fenoles, saponinas, taninos, flavonoides, alcaloides, esteroides, antraquinonas, (Prakashrao 2018; Avoseh et al. 2015) y diversos AE's, entre los principales se encuentran α -citrinal, β -citrila, nerol, geraniol, citronelol, mirceno, limoneno, entre otros (Haque et al. 2018). De las hojas de *C. citratus* se han extraído un total de 68 AE's (Mirghani et al. 2012).

Cuadro 1.1. Composición fitoquímica de *Cymbopogon citratus*.

Compuesto fitoquímico	Método de secado, g / 100 g <small>(Prakashrao 2018)</small>		
	Sol	Sombra	Gabinete
Alcaloides	1.88	2.16	2.61
Esteroides	0.57	0.67	0.72
Saponinas	1.38	1.82	2.21
Taninos	1.14	1.76	2.03

Sus compuestos bioactivos, principalmente los aceites esenciales, le han conferido diversidad de usos, en la industria de perfumería y cosméticos, para la fabricación de aromas, fragancias, cuidado de la piel, jabones, detergentes; en la industria de alimentos y bebidas como saborizante y preservador, como té o infusión; uso terapéutico y medicinal como antiespasmódico, antiinflamatorio, ansiolítico, anticonvulsivo, sedativo, antirreumático, cardioprotector, hipolipidémico, hipocolesterolémico e hipoglucemiante, antitusivo, otros

usos biológicos como antiséptico, antioxidante, antimicrobiano, antiviral, antiprotozoario, antihelmíntico, antifúngico, insecticidas y repelente de insectos e inhibidor de algunas enzimas como la α -amilasa (Cheel et al. 2005; Ganjewala 2009; Mirghani et al. 2012; Ekpenyong et al. 2014a, 2014b; Dutta et al. 2016; Haque et al. 2018; Solomon et al. 2019).

En ganado pocos son los estudios reportados con *C. citratus*, se ha evaluado su efecto sobre metabolitos sanguíneos, hormonas, actividad antioxidante, concentración de inmunoglobulina G y fermentación ruminal en vaquillas (Hosada et al. 2006); efectos sobre el consumo de materia seca (CMS), digestibilidad aparente, concentración de ácidos grasos volátiles (AGVs), utilización y balance de nitrógeno (N), población ruminal (bacterias, protozoarios y hongos) y producción de CH_4 (Wanapat et al. 2008, Wanapat et al. 2013); producción de gas y digestibilidad in situ (Nanon et al. 2014). Pawar et al. (2014) en líquido ruminal de búfalos, evaluó el efecto sobre la producción de CH_4 y concentración de AGV's. Y Agus et al. (2018) evaluaron su efecto, en ganado lechero, sobre el CMS, ganancia diaria de peso (GDP) y producción láctea, en una mezcla con 8 AEs de diferentes plantas.

2. Justificación

Es por elementos como los anteriores que surgió la necesidad de implementar las bases para estimar los requerimientos de ganado bovino F1, con propósito de carne, en una región templada de México, con animales e insumos alimenticios propios, con el supuesto de que los sistemas extranjeros no son los adecuados para formular las raciones acordes a las necesidades del ganado mexicano, siendo importante implementar estudios en las diversas regiones geo-climáticas con las que cuenta el país. Asimismo, el mejoramiento de las dietas y/o la inclusión de aditivos vegetales, en conjunto, pueden hacer más eficiente la utilización

de la energía en el ganado bovino, y dar como resultado una mayor ganancia diaria de peso y una reducción de las emisiones de CH₄ producido por fermentación entérica, contribuyendo hacia un menor efecto en el calentamiento global.

3. Objetivos generales

- 1) Estimar las necesidades de energía metabolizable de bovinos F1 a partir de la cuantificación de emisiones de metano, empleando alimentos y ganado de origen local, en una región templada de México (Experimento 1).
- 2) Desarrollar estrategias de mitigación de metano producido por fermentación entérica, para hacer más eficiente el uso de la energía bruta ingerida (Experimentos 2 y 3).

3.1. Objetivos específicos

Experimento 1.

- Estimar la partición de la energía bruta consumida, factor Y_m, metabolibilidad y densidad energética de las dietas de bovinos F1 alimentados con una dieta tipo de una región de clima templado de México.

Experimento 2 y 3.

- Evaluar los efectos antimetanogénicos de *C. bipinnatus*, *M. chamomilla* y *C. citratus* sobre el consumo de materia seca, digestibilidad de nutrientes, producción y rendimiento de metano en bovinos F1, alimentados con una dieta alta en concentrado.

- Evaluar los efectos antimetanogénicos de niveles crecientes *C. citratus* sobre el consumo de materia seca, digestibilidad de nutrientes, producción y rendimiento de metano, alimentados con una dieta 50 forraje: 50 concentrado.

Capítulo II
ESTIMACIÓN DE LA ENERGÍA METABOLIZABLE EN BOVINOS F1 A
PARTIR DE LA CUANTIFICACIÓN DE LAS EMISIONES DE METANO
POR FERMENTACIÓN ENTÉRICA

Vázquez-Carrillo, M. F.; Montelongo-Pérez, H. D.; González-Ronquillo, M.; Castillo-Gallegos, E.; & Castelán-Ortega, O. A. 2021. Partición de la energía bruta consumida y el aporte de energía metabolizable en bovinos F1: Partición de la energía en bovinos. *Ecosistemas Y Recursos Agropecuarios*, 8(2). DOI: 10.19136/era.a8n2.2976

Partición de la energía bruta consumida y el aporte de energía metabolizable en bovinos F1

Partitioning of gross energy intake and metabolizable energy supply in bovines F1

María Fernanda Vázquez-Carrillo¹
Hugo Daniel Montelongo-Pérez²
Manuel González-Ronquillo²
Epigmenio Castillo-Gallegos¹
Octavio Alonso Castelán-Ortega^{2*}

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3000, Colonia C.U., CP. 04510. Coyoacán, Ciudad de México, México.

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas, CP. 50295. Toluca, Estado de México, México.

* Autor de correspondencia:
oacastelano@uaemex.mx

Nota científica

Recibida: 09 de marzo 2021

Aceptada: 04 de junio 2021

Como citar: Vázquez-Carrillo MF, Montelongo-Pérez HD, González-Ronquillo M, Castillo-Gallegos E, Castelán-Ortega OA (2021) Partición de la energía bruta consumida y el aporte de energía metabolizable en bovinos F1. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 8(2): e2976. DOI: 10.19136/era.a8n2.2976

RESUMEN. Se estimó la partición de la energía bruta consumida (EBi) por novillonas, la densidad energética y metabolibilidad de la dieta (qm), y el factor de partición de la energía hacia metano (Ym), por la técnica de cámaras de respiración de circuito abierto. Se utilizaron cuatro novillonas de 206 ± 39.7 kg de peso vivo y 12 ± 0.93 meses de edad; distribuidas en un diseño completamente al azar y dos dietas: dieta A con 74% de ensilado de maíz + 26% de concentrado y dieta B con 100% de ensilado de maíz. Se utilizó una prueba de t para el análisis de resultados. El consumo de materia seca (CMS), digestibilidad, factor Ym y el rendimiento de metano $g\ kg^{-1}$ de CMS, para ambas dietas fue diferente ($P < 0.05$). Se logró estimar la partición de la EBi, la densidad energética y los factores Ym y qm de la dieta.

Palabras clave: Consumo de materia seca, digestibilidad, factor Ym , metabolibilidad, metano.

ABSTRACT. The partition of the gross energy intake (GEi) by heifers, the energy density, metabolicity of the diet (qm), and the Ym factor were estimated, by the open circuit respiration chamber technique. Four heifers of 206 ± 39.7 kg of live weight and 12 ± 0.93 months of age were used in a completely randomized design. The heifers were randomly assigned to two diets: Diet A consisted of 74% corn silage + 26% commercial concentrate and diet B 100% corn silage. A t-test was used for analysis of results. Dry matter intake (DMI), digestibility of the DM, Ym factor and methane yield ($CH_4\ g\ kg^{-1}$ DMI) for both diets were different ($P < 0.05$). In the present study we were able to estimate the partitioning of the GE consumed by the experimental animals; as well as the energy density, the Ym and qm factors of the diet.

Key words: Digestibility, dry matter intake, metabolicity, methane, Ym Factor.

INTRODUCCIÓN

La partición y utilización de la energía de los alimentos es un factor fundamental y limitante para la productividad de los bovinos (Posada-Ochoa *et al.* 2017). Para medir la partición de la energía en los bovinos se utilizan técnicas calorimétricas, como ensayos metabólicos y estudios de sacrificio comparativo, las cuales permitieron el desarrollo de sistemas de alimentación (SA) para los bovinos como son el AFRC (1993), NRC (2000), CSIRO (2007), INRA (2007), entre otros. Estos SA permiten, entre otras cosas calcular las necesidades diarias de energía y predecir el balance energético del animal (Galyean *et al.* 2016). Asimismo, cada sistema de alimentación posee una base de datos sobre la composición química y nutricional de alimentos, especialmente sus contenidos de energía metabolizable (EM) y proteína metabolizable (PM) que permiten usar las ecuaciones del sistema para predecir la respuesta animal. Sin embargo, tales SA se desarrollaron para ambientes específicos, es decir, se crearon para condiciones climáticas particulares de los países que los desarrollaron y con insumos alimenticios locales. Por tal motivo, es cuestionable aplicar los sistemas de alimentación de otros países a nuestras condiciones geo-climáticas. Por ejemplo, las plantas que crecen en regiones de clima árido y cercanas al ecuador, en general, contienen menos material digestible (más fibra y menos proteína), que aquellas que crecen en las regiones templadas y de tundra (Lee *et al.* 2017, Lee 2018).

En este orden de ideas, no debe sorprender que los SA sirvan mayormente para la industria ganadera del país de origen respectivo (Sainz *et al.* 1994). Así, a la fecha no se cuenta con SA mundiales, debido a las diferencias y particularidades de cada región bioclimática del planeta (Sainz *et al.* 1994). Por ejemplo, el uso de los sistemas basados en energía neta (EN), como en el NRC (2000) utiliza pruebas de sacrificio comparativo para obtener sus valores de EN, no obstante, en la actualidad la mayoría de los valores de EN se calculan a partir de la EM utilizando ecuaciones basadas en la conversión de energía digestible (ED) a EM (Galyean *et al.*

2016), pero aún estos factores de partición que se consideraban como estándar están actualmente bajo revisión por lo motivos antes mencionados.

De esta forma, la EN ha sido determinada empíricamente para algunos ingredientes, aunado a que la relación entre ED y EM puede variar considerablemente entre los ingredientes del alimento o las dietas (Galyean *et al.* 2016). Países menos desarrollados, pero con una industria ganadera importante como Brasil, el cual cuenta con el hato comercial de bovinos más grande del mundo, ha desarrollado sus SA para ganado cebuino y sus cruza, tales SA se encuentran más adecuados al ganado y forrajes de las regiones de clima tropical de Brasil, ya que se reconoce que una forma de aumentar la productividad del ganado es mejorando los sistemas de cálculo de los requerimientos nutricionales (Valadares-Filho *et al.* 2016).

Asimismo, conociendo las transformaciones que ocurren durante el proceso de partición de la energía en el animal se puede buscar alternativas de manejo nutricional que permitan reducir las pérdidas en el sistema animal, e incrementar la cantidad de energía del alimento retenida en productos utilizables como leche o carne (Mendoza *et al.* 2008, Kongphithee *et al.* 2018). Por ejemplo, para incrementar el aporte de EM sería necesario reducir las pérdidas de energía en heces, orina y en gases como el metano (CH₄) (Mendoza *et al.* 2008). En este sentido, al porcentaje de energía bruta (EB) consumida convertida en metano se le conoce como factor Y_m ; la magnitud o el tamaño de este factor se encuentra influenciada por características propias de la dieta como su digestibilidad, composición química, tasa de pasaje y características propias del animal como la variación en la microbiota ruminal, consumo de materia seca (CMS) y cinética de degradación (IPCC 2006, Jaurana *et al.* 2015). Por lo tanto, para reducir las pérdidas de energía del alimento a partir del CH₄ e incrementar la eficiencia de utilización de la energía es necesario tener en cuenta los factores antes mencionados (Hristov *et al.* 2013). En México existen diferentes sistemas de producción, que van desde la ganadería de traspatio, hasta sistemas con un alto grado de tecnificación; definidos por una gran diver-

sidad de componentes, entre ellos la genética animal, la región bioclimática y por consiguiente el tipo de alimentación; ya que aproximadamente la mitad del país se encuentra en la región intertropical y la otra mitad en el hemisferio norte del planeta (Améndola *et al.* 2005, Castelán-Ortega *et al.* 2019). Por lo tanto, no existe duda que la disponibilidad de la energía de las plantas para los bovinos en función de su sitio de crecimiento (Lee *et al.* 2017), impacta la eficiencia de utilización de la energía de los alimentos por los bovinos, en sus requerimientos de energía, y sobre la producción de carne o leche (Améndola *et al.* 2005, Lee 2018). Además de la variabilidad generada por la raza, sexo y estado fisiológico del animal (NRC 2000), también la composición de los nutrientes y el valor energético de los alimentos varía ampliamente de acuerdo a las diferencias genéticas de la planta, dadas por factores como el manejo y la región climática en la que se encuentren (Lee 2018). Lo anterior, demuestra la importancia de estimar el aporte energético y partición de la energía de dietas elaboradas con ingredientes locales y bovinos de México, para desarrollar sistemas de alimentación basados en características del ganado y los forrajes y alimentos propios del país.

En México no existen sistemas de alimentación que tomen en cuenta los aspectos antes mencionados, por lo tanto, se utilizan los diferentes SA según el criterio del investigador. En este sentido el presente estudio tuvo como objetivo determinar la partición de la EB consumida por el animal, la metabolicidad de la dieta y el factor Ym a través de la cuantificación de las emisiones de metano (CH_4) por la técnica de la cámara de respiración a circuito abierto, empleando ganado bovino y dos dietas características de una región de clima templado de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

El experimento se realizó en el Laboratorio de Ganadería, Medio Ambiente y Energías Renovables (LAGMAER) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México (FMVZ-UAEMex), ubicado en El Cerrillo

Piedras Blancas, Toluca, Estado de México a una latitud norte de $19^{\circ} 24' 15''$, longitud oeste de $99^{\circ} 41' 06''$, y a una altura de 2 632 msnm.

Equipo de medición

El LAGMAER cuenta con dos cámaras de respiración de circuito abierto, provistas de puerta delantera y trasera. Además de una válvula de entrada de aire en la parte superior; así como un ventilador para favorecer la co-dispersión de los gases, aire acondicionado y luz artificial en su interior. Los animales se mantuvieron a una temperatura y humedad relativa promedio de $18^{\circ}C$ y 41.7%, respectivamente. Dentro de cada cámara de respiración (CR) se tiene una jaula metabólica, que tiene comedero y bebedero tipo canoa, por debajo de la jaula en la parte posterior se colocó un contenedor para coleccionar las heces. El sistema de medición de CH_4 estuvo compuesto por dos generadores de flujo de masas modelo FK2K, un analizador de metano por infrarrojo cercano modelo MA-10, un multiplexor (RM-8), una interface modelo UI-2 con sistema de medición a una computadora de escritorio (Vázquez-Carrillo *et al.* 2020, Castelán-Ortega *et al.* 2020). Todo el sistema es de la marca Sable Systems International (Las Vegas, USA). Previo a cada medición se calibró el analizador, primero se inyectó nitrógeno de alta pureza (N_2 , Praxair Inc.), hasta que el display marcó 0.000%, posteriormente se inyectó una mezcla de gases con una concentración de CH_4 de 0.099%, una vez que el analizador de CH_4 marcó la concentración conocida CH_4 se consideró calibrado.

Animales experimentales

Los animales recibieron atención y manejo humanitario; el experimento fue autorizado por el Subcomité Institucional de Cuidado y Uso de Animales Experimentales, protocolo DC2018 / 2-8, de la Universidad Nacional Autónoma de México. Se utilizaron cuatro bovinos hembras F1 (Holstein \times Charoláis) de 206 ± 39.7 kg peso vivo (PV) promedio inicial y edad de 12 ± 0.93 meses. Antes de iniciar el experimento los animales se vitaminaron y desparasitaron, y se encontraron clínicamente sanos. Los animales se adaptaron a las cámaras de respiración (CR), y

se llevaron por parejas dos veces por semana por un periodo de 8 a 10 h d^{-1} , con la finalidad de que su CMS no se viera afectado durante el periodo de medición en las cámaras. Los animales se alojaron en corrales individuales durante todo el experimento. Al inicio y al final de cada periodo experimental los animales se pesaron previo ayuno de 14 a 16 h.

Dietas experimentales

Se evaluaron dos tratamientos experimentales, que corresponden a dietas similares a las utilizadas en la región central del país y elaboradas con insumos locales: dieta A, compuesta por 74% de ensilado de maíz + 26% de concentrado comercial (Fatina[®]), y la dieta B compuesta por 100% de ensilado de maíz. La composición química del ensilado de maíz fue 33% MS, 76.8 g de proteína cruda kg^{-1} MS (PC), 556.8 g de fibra detergente neutro kg^{-1} MS (FDN) y 255.5 g de fibra en detergente ácido kg^{-1} MS (FDA). La composición química del alimento concentrado fue de 88% MS, 120 g PC kg^{-1} MS, 331 g FDN kg^{-1} MS, y 114.2 g FDA kg^{-1} MS.

Mediciones

Los animales fueron alimentados una vez al día a las 9:00 AM, ofreciendo 8 y 7 kg MS de la dieta A y B, respectivamente, y el agua se ofreció *ad libitum*. Todos los días se pesó la dieta ofrecida y se tomó una muestra del 5% del alimento ofrecido a cada animal para tener alícuotas representativas. El CMS se estimó por diferencia del alimento ofrecido menos el rechazado. Para el cálculo de la digestibilidad aparente de la dieta (DIG), se midió la producción total de heces de cada animal; las cuales se recolectaron con una pala directamente de la jaula metabólica que estaba dentro de la CR, todas las heces se pesaron y se tomó una muestra de aproximadamente el 10% del total de heces producidas por animal. Las alícuotas de dietas y heces, se secaron en una estufa de aire forzado (Ecoshel 9023A, México) a 60 °C por 72 y 120 h, respectivamente (AOAC 1990). Una vez determinada la MS se preservaron en bolsas individuales dentro de un recipiente, ambos de plástico, para su posterior análisis de energía bruta (EB, MJ/kg MS) por medio de una

bomba calorimétrica de marca Parr (Illinois, USA), la PC se determinó por el método de Kjeldahl (AOAC 1990) y el contenido de fibra detergente neutro (FDN) y ácida (FDA) con el analizador de fibras ANKOM 200 (ANKOM, USA).

Determinación de la partición de la energía bruta consumida

Se obtuvo el valor calorífico del alimento y las pérdidas de energía en forma de heces y CH_4 . La producción total de CH_4 por animal (ECH_4) se multiplicó por su valor calorífico, asumiendo que 1 g de CH_4 equivale a 55.5 kJ (Brouwer 1965). No se recolectó la orina, por lo cual su contenido energético se estimó suponiendo que del total de la EB ingerida, el 3 a 5% (Van Soest 1994) se pierde en la orina, se tomó como referencia el 3 y 4% para dietas con baja y alta digestibilidad, respectivamente (Kirkpatrick *et al.* 1997). La energía digestible consumida (EDI , $MJ d^{-1}$) se determinó por la diferencia entre la EB ingerida (EBi) menos la EB contenida en las heces. La EM ingerida (EMi , $MJ d^{-1}$) fue el resultado de la EDI menos la energía contenida en la orina y el CH_4 ; y la metabolicidad de la dieta el resultado de dividir la EM entre la EB (AFRC 1993). La densidad energética de la dieta en términos de ED y EM, expresada en $MJ kg MS^{-1}$, se obtuvo al multiplicar la EB de la dieta por el porcentaje de la EDI y EMi divididos entre EBi , respectivamente. Finalmente, el factor Ym (%) se obtuvo dividiendo ECH_4 entre la EBi .

Diseño experimental y análisis estadístico

Los cuatro animales fueron distribuidos en un diseño completamente al azar, dos animales en cada tratamiento experimental, en cada animal se midieron las variables de estudio dos veces (8 submuestras) al final de cada periodo de medición. En cada ocasión los animales tuvieron 24 días de adaptación a la dieta y cuatro días de medición. De esta forma dos animales se alimentaron con la dieta A, y dos animales con la dieta B. En los días de medición los animales se llevaron a las CR para cuantificar la emisión de CH_4 durante 24 h (un animal por cámara), el CMS y la DIG. De esta forma se obtuvieron dos mediciones de cada variable por animal. Los resultados

se analizaron con el siguiente modelo mixto y lineal según Kuehl (1999):

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} + d_{ijk}$$

Donde μ es la media general, τ_i es el efecto fijo del i -ésimo tratamiento, ε_{ij} es el efecto aleatorio del error experimental para la j -ésima unidad experimental del i -ésimo tratamiento, y d_{ijk} es el efecto aleatorio para la k -ésima submuestra de la j -ésima unidad experimental del i -ésimo tratamiento (distribución normal, $\mu = 0$, $\sigma = 1$). Para el análisis de varianza se utilizó el software RStudio versión 1.3.1073 (R core Team 2019).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los resultados para las variables relativas a la partición de la energía y la emisión de CH_4 . Es importante indicar que el uso de un tamaño de muestra pequeño puede llegar a generar intervalos de confianza amplios para los estimadores de las medias poblacionales. Lo que consecuentemente dificulta encontrar diferencias estadísticamente significativas en las comparaciones de medias de los tratamientos (Kuehl 1999), lo que no ocurrió en el presente estudio. Se observó que el CMS de la dieta A fue mayor ($P < 0.05$) con respecto a la B, lo cual se podría explicar porque el 26% de concentrado en la dieta A favoreció una mayor digestibilidad ($P < 0.05$) y por lo tanto un mayor aporte de energía de la dieta (Blaxter 1964). También es posible que la suplementación energética del concentrado favoreciera la actividad microbiana ruminal, incrementando la digestibilidad, la velocidad de pasaje y por ende el CMS (Carvalho *et al.* 2020). Las propiedades físicas y químicas del forraje en la dieta B, como son un mayor contenido de FDN, FDA, lignina, menor digestibilidad ($\text{DIG} = 57.7\%$), y por lo tanto menor disponibilidad de EM, posiblemente deprimieron el consumo voluntario por la resistencia del forraje a ser degradado por la masticación durante la comida y rumia, menor actividad microbiana, así como por el volumen limitado del retículo-rumen, de lo cual depende la velocidad de paso (Carvalho *et al.* 2020). Con respecto a la producción de

CH_4 , se observa que ambas dietas tuvieron el mismo volumen de emisión diario de CH_4 ($P > 0.05$); pero el rendimiento de CH_4 (g de $\text{CH}_4 \text{ kg}^{-1}$ CMS) fue menor ($P < 0.05$) en la dieta A, 15.4 g de $\text{CH}_4 \text{ kg}^{-1}$ CMS, que el de la dieta B, 20.7 g de $\text{CH}_4 \text{ kg}^{-1}$ CMS, a pesar de que el CMS fue mayor en la dieta A ($P < 0.05$). La Tabla 1 muestra también que los animales con la dieta B, perdieron más energía en forma de CH_4 con un $Ym = 7.4\%$ ($P < 0.05$), respecto a la dieta A, $Ym = 5.7\%$.

Tabla 1. Consumo, digestibilidad, producción de metano y partición de la energía bruta consumida en bovinos F1 alimentados con dos dietas.

Variable n = 4	Dieta A	Dieta B	Valor P
CMS kg d^{-1}	6.4 ^a ± 0.4	4.6 ^b ± 0.4	0.024
DIG, %	74.7 ^a ± 0.05	57.7 ^b ± 0.03	0.050
CMS DIG kg d^{-1}	4.7 ^a ± 0.6	2.5 ^b ± 0.3	0.037
CH_4 , L d^{-1}	137.7 ± 4.8	133 ± 18.3	0.415
CH_4 , L kg^{-1} CMS	21.5 ^b ± 1.6	28.9 ^a ± 4.5	0.032
CH_4 , g kg^{-1} CMS	15.4 ^b ± 1.2	20.7 ^a ± 3.2	0.031
Ym , %	5.7 ^b ± 0.6	7.4 ^a ± 1.2	0.034
Ebi, MJ d^{-1}	95.7 ^a ± 9.6	71.7 ^b ± 5.3	0.024
Eh, MJ d^{-1}	23.7 ± 4.0	29.3 ± 2.2	0.231
EDi MJ d^{-1}	72.0 ^a ± 9.9	42.3 ^b ± 5.3	0.036
ED:EB	0.75 ^a ± 0.05	0.59 ^b ± 0.04	0.050
Eu MJ d^{-1}	3.83 ^a ± 0.4	2.15 ^b ± 0.2	0.006
ECH_4 MJ d^{-1}	5.45 ± 0.2	5.3 ± 0.7	0.461
ECH_4 :EB (Ym)	0.06 ^b ± 0.00	0.07 ^a ± 0.01	0.041
EMi, MJ d^{-1}	62.7 ^a ± 9.7	34.9 ^b ± 5.3	0.041
EM:EB	0.65 ± 0.05	0.49 ± 0.05	0.061
EM:ED	0.87 ^a ± 0.02	0.83 ^b ± 0.03	0.046

Dieta A = 74% de ensilado de maíz + 26% de concentrado; Dieta B = 100% de ensilado de maíz; CMS = Consumo de materia seca; DIG = Digestibilidad, Ym = factor de partición de la energía bruta consumida hacia metano. Ebi = energía bruta ingerida, Eh = energía perdida en la materia fecal, EDi = energía digestible ingerida, EDi:EBi = Relación EDi/EBi; Eu = energía perdida en la orina (calculada), ECH_4 = Energía perdida como metano; EMi = energía metabolizable ingerida, EMi:EBi = relación EMi/EBi, EMi:EDi = relación EMi/EDi; Ym = factor de partición de la energía bruta consumida hacia metano. Todas las variables anteriores fueron resultado de las mediciones dentro de las cámaras de respiración.

Por lo tanto, el rendimiento de CH_4 dependió de la calidad de la dieta expresada en términos de su digestibilidad, está claramente establecido que las raciones basadas únicamente en forrajes presentan una fermentación mayormente de tipo acética, a diferencia de una dieta compuesta a base de grano y forraje, la cual produce mayor cantidad de ácido propiónico (Popova *et al.* 2011). También se sabe que la producción de ácido acético promueve la pro-

ducción de CH₄ debido a que libera moléculas de carbono en forma de CO₂ y de H₂, mientras que la producción de ácido propiónico conserva las moléculas de carbono y captura hidrógeno, reduciendo la emisión de dicho gas (Hook *et al.* 2010). Al parecer, este último mecanismo tuvo un efecto más importante en el presente experimento (Tabla 1), aun cuando la cantidad de concentrado utilizado fue de sólo 26%. Asimismo, el factor *Ym* obtenido para ambas dietas se encuentra dentro de valores encontrados para ganado de carne alimentado con dietas altas en forraje (> 25% de inclusión de forraje) el cual oscila de 6.3 ± 1.4 (Van Lingen *et al.* 2019).

Con respecto a la partición de la energía bruta ingerida (EBi), se observó que la inclusión de cantidades pequeñas de concentrado en la dieta A resultó en un consumo más elevado de EB (P < 0.05), a pesar de que la concentración de EB por kilogramo de MS fue igual entre ambas dietas (P > 0.05) (Tabla 2); sin embargo la mayor EBi se debió al CMS más alto en los animales con la dieta A (Tabla 1). De igual forma, la disponibilidad de la energía metabolizable fue mayor en la dieta A, ya que el factor de partición de la energía digestible a energía metabolizable (EM:ED) fue mayor en la dieta A con respecto a la dieta B (P < 0.05), lo cual se debió al mayor consumo, digestibilidad y consumo de EB más alta de la dieta A con respecto a la dieta B.

Tabla 2. Densidad energética y metabolibilidad de las dietas experimentales.

Variable	Dieta A	Dieta B	Valor P
EB, MJ kg MS ⁻¹	14.9 ± 0.9	15.5 ± 0.2	0.590
ED, MJ kg MS ⁻¹	11.2 ± 1.1	9.2 ± 0.6	0.073
EM, MJ kg MS ⁻¹	9.7 ± 1.1	7.5 ± 0.8	0.071
<i>qm</i>	0.65 ± 0.05	0.49 ± 0.05	0.060

Dieta A = 74% de ensilado de maíz + 26% de concentrado, Dieta B = 100% de ensilado de maíz, EB = Energía bruta, ED = Energía digestible, EM = Energía metabolizable; *qm* = metabolibilidad de la dieta.

Todos los factores que afecten la digestibilidad, como el nivel de fibra en la dieta, van a afectar el consumo de energía digestible; por ejemplo, se ha demostrado que altos niveles de FDN en la dieta afectan de forma negativa el consumo de ED (Tarazona *et al.* 2012, Carvalho *et al.* 2020). En este sentido,

la relación de EM:ED, EM:EB y ED:EB aumentará cuanto mayor sea la digestibilidad de la dieta y menor sea su concentración de FDN y FDA, y por el contrario, con altos niveles de FDN y FDA, la digestibilidad de la dieta es menor y por lo tanto su aporte de EM al animal también (AFRC 1993).

La media de la relación EM:ED es de 0.87 para la dieta A y 0.83 para la dieta B, aunque se encuentra cercano a lo sugerido por distintos sistemas de alimentación: 0.81 (CSIRO 2007), 0.82 (NRC 2000) y 0.81-0.86 (AFRC 1993), era de esperarse que fuese diferente, ya que éste valor se encuentra definido, principalmente, por el tipo de dieta, que en el caso de México tiende a ser de menor calidad sobre todo en el caso de los forrajes por el efecto del clima más cálido sobre el crecimiento y maduración de las plantas (Castelán-Ortega *et al.* 2019). En este sentido, nuestro valor de EM:ED es más parecido al reportado por Da Fonseca *et al.* (2019) para las regiones de clima tropical de Brasil, el cual fue de 0.86 para una dieta compuesta de 50:50 concentrado:forraje, sorgo y *Panicum máximum* cv. Tanzania.

La Tabla 2 muestra la densidad energética y metabolibilidad de la dieta (*qm*). La ED, EM y el *qm* fue numéricamente diferente, siendo mayor en la dieta A, respecto a la dieta B. Este resultado se puede explicar por la mayor digestibilidad de la dieta A (P < 0.05), ya que la digestibilidad es la principal determinante de la metabolibilidad de la dieta, pues está claramente establecido que raciones más digestibles son utilizadas por los animales de modo más eficiente que las dietas de baja digestibilidad (Blaxter 1964). Los resultados para el valor *qm* son muy parecidos a los valores más bajos de *qm* recomendados por el AFRC (1993) para ganado productor de carne alimentados con dietas altas en fibras (*qm* = 0.4) como la dieta B y dietas de mejor calidad (*qm* = 0.5) como la dieta A. Esto quiere decir que la metabolibilidad de los forrajes y dietas empleadas en el presente estudio son más parecidas a los forrajes de mala calidad en un país de clima templado (Lee 2018).

El presente estudio permitió determinar la partición de la EBi, la metabolibilidad y el factor *Ym*, de los bovinos bajo estudio. Los resultados derivados de la partición de la energía, como la relación EM:ED o

factor de partición de la energía digestible a energía metabolizable de la dieta, que, aunque se encontró cercano a lo establecido por sistemas energéticos internacionales, se encuentra por arriba del valor por defecto de 0.82 mencionado por el NRC (2000). Lo que sugiere la necesidad de generar valores acordes a las condiciones de la ganadería de cada país, tal como lo hace Brasil (da Fonseca *et al.* 2019), y Hales *et al.* (2014) quienes reportan un valor de 0.89 a 0.92, el cual atribuyen a la dieta, a la genética, a la edad del animal, entre otros factores. Incluso Galyean *et al.* (2016) en una revisión hecha al Sistema de Energía Neta de California aconseja dejar de utilizar el valor por defecto de 0.82 que sugiere NRC (2000), y moverse al uso de una ecuación lineal más precisa para calcular el factor de partición EM:ED. Aunque no se observó diferencia en la densidad de la energía bruta de las dietas, la inclusión de una cantidad pequeña de concentrado mejoró la digestibilidad de la MS en la

dieta A, haciendo más eficiente el uso de la energía por el animal. Lo que se reflejó en un valor menor para el factor Y_m , por lo tanto es necesario realizar más estudios de este tipo utilizando diferentes forrajes y suplementos energéticos que permitan encontrar combinaciones de ambos ingredientes que hagan más eficiente el uso de la energía por los bovinos y de esta forma tener sistemas de producción más sustentables y amigables al medio ambiente.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por financiar parte de este trabajo a través del proyecto con clave CB2013-223418-T, así como también por la beca para estudios de doctorado de la primera autora.

LITERATURA CITADA

- AFRC (1993) Energy and Protein Requirements of Ruminants. An Advisory Manual Prepared by the Agricultural Food and Research Council Technical Committee on Responses to Nutrients. CAB International. Wallingford, UK. 176p.
- Améndola R, Castillo GE, Martínez PA (2005) Country pasture/forage resource profiles. México. Country pasture profiles. FAO. Roma, Italia. 68p.
- AOAC (1990) Official Methods of Analysis. 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA. 1230p.
- Blaxter KL (1964) Energy Metabolism of Ruminants. Hutchinson and Co. (Publishers) Ltd London, England.
- Brouwer E (1965) Report of sub-committee on constants and factors. In: Blaxter KL (ed) Energy metabolism of farm animals. Academic Press. London. pp: 441-443
- Carvalho HV, Pinto CJ, Millen DD, Felix TL (2020) Effect of cattle breed and basal diet on digestibility, rumen bacterial communities, and eating and rumination activity. *Journal of Animal Science* 98: skaa114. DOI: 10.1093/jas/skaa114
- Castelán-Ortega OA, Ku-Vera JC, Ángeles-Hernández JC, Benaouda M, Hernández-Pineda GS, Molina TL, Ramírez-Cancino L, Castelán-Jaime SV, Praga-Ayala AR, Lazos-Balbuena F, Montelongo-Pérez HD, González-Ronquillo M, Vázquez-Carrillo MF, Cardoso-Gutiérrez E, Aranda-Aguirre E, Villegas-Estrada D, Guadarrama-López P, Apodaca-Martínez G (2019) Ganadería. En: Paz-Pellat F, Hernández-Ayón JM, Sosa-Ávalos R, Velázquez-Rodríguez AS (ed). Estado del ciclo del carbono en México: Agenda azul y verde. Programa Mexicano del Carbono. Texcoco, Estado de México, México. pp: 492-528.
- Castelán-Ortega OA, Pedraza-Beltrán PE, Hernández-Pineda GS, Benaouda M, González-Ronquillo M, T Molina L, Ku-Vera JC, Montelongo-Pérez HG, Vázquez-Carrillo MF (2020) Construction and operation of a respi-

- ration chamber of the head-box type for methane measurement from cattle. *Animals* 10(2): 227. DOI: 10.3390/ani10020227.
- CSIRO (2007) Nutrient requirements of domesticated ruminants. CSIRO Publishing. Collingwood, Australia. 270p.
- da Fonseca MP, Borges ALDCC, Carvalho PHA, Silva RR, Gonçalves LC, Borges I, Lage FH, Ferreira LA, Saliba SEO, Jayme GD, da Glória RJ, Graça SD, Meneses MR, Carvalho UA, Filho FJE, Silva AA (2019). Energy partitioning in cattle fed diets based on tropical forage with the inclusion of antibiotic additives. *PLoS One*. 14(4): e0211565. DOI: 10.1371/journal.pone.0211565.
- Galyean ML, Cole NA, Tedeschi LO, Branine ME (2016) Board-invited review: Efficiency of converting digestible energy to metabolizable energy and reevaluation of the California Net Energy System maintenance requirements and equations for predicting dietary net energy values for beef cattle. *Journal Animal Science* 94: 1329-1341.
- Hales KE, Brown-Brandl TM, Freetly HC (2014). Effects of decreased dietary roughage concentration on energy metabolism and nutrient balance in finishing beef cattle. *Journal Animal Science* 92: 264-71. DOI: 10.2527/jas.2013-6994.
- Hook SE, Denis A, Wright G, McBride BW (2010) Methanogens: Methane producers of the rumen and mitigation strategies. *Archaea* 2010: 945785. DOI: 10.1155/2010/945785
- Hristov AN, Oh J, Lee C, Meinen R, Montes F, Ott T, Firkins J, Rotz A, Dell C, Adesogan A, Yang W, Tricarico J, Kebreab E, Waghorn G, Dijkstra J, Oosting S (2013) Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production - A review of technical options for non-CO₂ emissions. *FAO Animal Production and Health Rome, Italy*. 149p.
- INRA (2007) Institut National de la Recherche Agronomique France. Alimentation des bovins, ovins et caprins. Besoins des animaux. Valeur des aliments. Tables INRA 2007. Editions Quae, Versailles, France. 330p.
- IPCC (2006) Guidelines for national greenhouse gas inventories. Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories. Japan. Programme Intergovernmental Panel on Climate Change. IGES, Japan. pp. 10.1-10.34.
- Jaurena G, Cantet JM, Arroquy IJ, Palladino RA, Wawrzekiewicz M, Colombatto D (2015) Prediction of the *Y_m* factor for livestock from on-farm accessible data. *Livestock Science* 177: 52-62.
- Kirkpatrick DE, Steen R, Unsworth EF (1997) The effect of differing forage: concentrate ratio and restricting feed intake on the energy and nitrogen utilization by beef cattle. *Livestock Production Science* 51: 151-164.
- Kongphitee K, Sommart K, Phonbumrung T, Gunha T, Suzuki T (2018) Feed intake, digestibility and energy partitioning in beef cattle fed diets with cassava pulp instead of rice straw. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 31: 1431-1441.
- Kuehl RO (1999) Design of Experiments: Statistical Principles of Research Design and Analysis. 2nd Edition. Duxbury Press, USA. 666p.
- Lee MA, Davis AP, Chagunda MGG, Manning P (2017) Forage quality declines with rising temperatures, with implications for livestock production and methane emissions. *Biogeosciences* 14: 1403-1417.
- Lee MA (2018) A global comparison of the nutritive values of forage plants grown in contrasting environments. *Journal of Plant Research* 131: 641-654.
- Mendoza G, Plata F, Espinosa R, Lara A (2008) Manejo nutricional para mejorar la eficiencia de utilización de la energía en bovinos. *Universidad y Ciencia* 24: 75-87.


- NRC (2000) Nutrient Requirements of Beef Cattle. 6th Edition. National Academy Press, Washington DC, USA. 248p.
- Popova M, Morgavi D, Doreau M, Martin C (2011) Production de méthane et interactions microbiennes dans le rumen. *INRA Productions Animales* 24: 447-460.
- Posada-Ochoa SL, Noguera RR, Rodríguez NM, Costa AL, Reis R (2017) Indirect calorimetry to estimate energy requirements for growing and finishing Nellore bulls. *Journal of Integrative Agriculture* 16: 151-161.
- R core Team (2019) R: A Language and Environment for Statistical Computing (version 1.3.1073). R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>. Fecha de consulta 5 de enero de 2021.
- Sainz RD, Fernández C, Baldwin RL (1994) Valoración de alimentos para rumiantes en cebo: el sistema americano NRC. En: Rebollar PG, Mateos GG, De Blas C (eds.) X Curso de especialización FEDNA: Avances en Nutrición y Alimentación Animal. Madrid, España. pp: 227-239.
- Tarazona AM, Ceballos MC, Naranjo JF, Cuartas CA (2012) Factores que afectan el comportamiento de consumo y selectividad de forrajes en rumiantes. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 25: 473-487.
- Valadares-Filho SC, Costa e Silva LF, Pies-Gionbelli M, Pizzi-Rotta P, Marcondes MI, Chizzotti ML, Franco-Prados L (2016) BR - Corte: nutrient requirements of Zebu and crossbred cattle. 3rd Edition. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa Brasil. 314p.
- Van Lingen HJ, Niu M, Kebreab E, Valadares FSC, Rooke J, Duthied CA, Schwarm A, Kreuzer M, Hynd IP, Caetano M, Eugéne M, Martin C, McGee M, O'Kiely P, Hünerberg M, McAllister TA, Berchielli TT, Messana DJ, Peiren N, Chaves Va, Charmley E, Cole AN, Hales EK, Lee SS, Berndt A, Reynolds CK, Crompton AL, Bayat RA, Yáñez-Ruiz DR, Yu Z, Bannik A, Dijkstra J, Casper PD, Hristov NA (2019) Prediction of enteric methane production, yield and intensity of beef cattle using an intercontinental database. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 283: 106575. DOI: 10.1016/j.agee.2019.106575
- Van Soest PJ (1994) Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd Edition. Cornell University Press New York, USA. 476p.
- Vázquez-Carrillo MF, Montelongo-Pérez HD, González-Ronquillo M, Castillo-Gallegos E, Castelán-Ortega OA (2020) Effects of three herbs on methane emissions from beef cattle. *Animals* 10: 1671. DOI: 10.3390/ani10091671

Capítulo III
DESARROLLO DE ESTRATEGIAS DE MITIGACIÓN DE EMISIONES DE
METANO POR FERMENTACIÓN ENTÉRICA

Vázquez-Carrillo, M.F.; Montelongo-Pérez, H.D.; González-Ronquillo, M.; Castillo-Gallegos, E.; Castelán-Ortega, O.A. 2020. Effects of Three Herbs on Methane Emissions from Beef Cattle. *Animals* 10(9):1671. DOI: 10.3390/ani10091671

Article

Effects of Three Herbs on Methane Emissions from Beef Cattle

María Fernanda Vázquez-Carrillo ¹, Hugo Daniel Montelongo-Pérez ²,
Manuel González-Ronquillo ² , Epigmenio Castillo-Gallegos ¹ and
Octavio Alonso Castelán-Ortega ^{2,*}

¹ Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City CP 04510, Mexico; mafervc@comunidad.unam.mx (M.F.V.-C.); epigmeniocastillo@comunidad.unam.mx (E.C.-G.)

² Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Instituto Literario 100, Universidad Autónoma del Estado de México, Colonia Centro, Toluca CP 50000, Mexico; hugo_as159@hotmail.com (H.D.M.-P.); mrg@uaemex.mx (M.G.-R.)

* Correspondence: oacastelano@uaemex.mx

Received: 23 August 2020; Accepted: 15 September 2020; Published: 16 September 2020



Simple Summary: Cattle represent a significant source of greenhouse gases (GHGs). In 2010, cattle emitted 5.0 gigatons of CO₂ equivalents globally, which represents about 62% of the livestock sector emissions. Therefore, mitigating GHGs such as methane (CH₄) originating from the cattle industry, offers an opportunity to reduce GHG emissions and climate change over the short term. Ruminant nutritionists have developed different strategies, which include the use of antibiotics, herbs and chemical compounds, such as nitrate, to manipulate rumen fermentation and reduce CH₄ emissions. So, the objectives of the present work were to evaluate the in vivo antimethanogenic effects of three herbs: *Cymbopogon citratus* (CC), *Matricaria chamomilla* (MC) and *Cosmos bipinnatus* (CB) on beef cattle fed a high in concentrate diet and the effects of increasing levels of CC on enteric CH₄ emissions by beef cattle fed a ration low in concentrate. We concluded that CC significantly reduced methane yield (g of CH₄/kg of DMI) by 33%, CB reduced methane yield by 28%, and MC had no significant effect. In Experiment 2, CC supplemented with 2% of the daily DMI significantly reduced the total daily CH₄ emissions by 26% without affecting the supply of nutrients to the animal.

Abstract: The objectives of the present work were to evaluate the in vivo antimethanogenic effects of *Cymbopogon citratus* (CC), *Matricaria chamomilla* (MC) and *Cosmos bipinnatus* (CB) on beef cattle fed a high in concentrate diet (forage-to-concentrate ratio [F:C] of 19.4:80.6), and the effects of increasing levels of CC (0%, 2%, 3%, and 4% of the daily DM intake (DMI)) on enteric CH₄ emissions by beef cattle fed a ration low in concentrate (F:C ratio of 49.3:50.7). Two experiments were conducted to address the objectives. For the first experiment, eight Charolais × Brown Swiss steers distributed in a replicated 4 × 4 Latin square experimental design were used. Four treatments were evaluated: (1) control diet (CO), (2) CO + 365 g dry matter (DM)/d CB, (3) CO + 365 g DM/d MC, (4) CO + 100 g DM/d CC. For Experiment 2, four Charolais × Brown Swiss steers distributed in a single 4 × 4 Latin square design were used. It was concluded that 100 g DM per day CC and 365 g DM per day CB (Experiment 1) reduced CH₄ yield of beef cattle. In Experiment 2, CC supplementation levels exceeding 2% of DMI reduced daily CH₄ emissions but at the expense of decreasing digestibility of DM.

Keywords: methane; mitigation; beef cattle; *Cosmos bipinnatus*; *Cymbopogon citratus*; *Matricaria chamomilla*

1. Introduction

There is growing concern worldwide regarding the role that domestic ruminants play in global warming and climate change. Domestic ruminants produce large amounts of greenhouse gases (GHGs), such as methane (CH₄), which originates from enteric fermentation and the degradation of feces [1,2]. According to the Environmental Protection Agency of the United States of America [3], in 2018, global CH₄ production from enteric fermentation represented 28% of the methane emitted globally by the agricultural, forestry and other land-use (AFOLU) sector. The AFOLU sector represents 24% of the total GHGs emitted globally.

The United States is the largest producer of beef worldwide and, as a result, beef and dairy cattle contribute to approximately 48% of the US agricultural GHG emissions reported in 2015 [4,5]. Methane is produced in large volumes by cattle, e.g., up to 716 g/d for a dairy cow [6] and up to 372 g/d for beef cow [7]. This gas is 28 times more powerful than CO₂ in terms of its capacity to cause the greenhouse effect; however, its lifespan in the atmosphere ranges from only 9 to 15 years [2]. The short lifespan of CH₄ means that it may be possible to mitigate climate change more rapidly by reducing enteric CH₄ emissions than by reducing CO₂ emissions because the CO₂ can remain in the atmosphere for up to 200 years. Therefore, mitigating the CH₄ from cattle offers an opportunity to reduce GHG emissions and climate change.

Ruminant nutritionists have developed different strategies, which include the use of antibiotics and plant secondary metabolites and other chemical compounds, such as nitrate, to manipulate rumen fermentation, and reduce CH₄ and nitrogen (N) emissions [8,9]. It is well known that the use of synthetic antibiotics, e.g., monensin, as feed additives is a useful way to reduce energy losses in the form of CH₄ in ruminants [10]. For example, according to Appuhamy et al. [11], monensin supplementation reduces CH₄ emissions by 15% in beef cattle. However, such use of antibiotics has caused public concern because of the presence of residues in milk and beef and the increasing resistance of microbes to treatment with antibiotics. Thus, the use of antibiotics for this purpose is banned in some countries. For the last two decades, scientists have been evaluating the potential of natural feed additives such as herbs and plant extracts, which have also been used for centuries for various purposes in human diets. Herbs such as garlic [12] and oregano [13], have been shown to modulate rumen fermentation, improve nutrient utilization, and reduce CH₄ production in ruminants. Similarly, lemongrass (*Cymbopogon citratus*) and peppermint (*Mentha × piperita*), when used as feed additives alone or in combination, have been reported to improve production performance and rumen fermentation efficiency in terms of microbial cell synthesis and VFA production, and reduce CH₄ production [14].

Furthermore, Wanapat et al. [15] demonstrated that 100 g/d *Cymbopogon citratus* (CC) powder enhanced the digestibility of nutrients, the rumen microbial community (by increasing cellulolytic and amylolytic bacteria), and microbial protein synthesis efficiency, thus improving rumen ecology in beef cattle. However, the antimethanogenic effect of CC was not measured in respiration chambers by Wanapat et al. [14], it was estimated on the basis of the VFAs concentration in rumen liquor. Thus, it is necessary to evaluate the antimethanogenic properties of CC and its potential as an antimethanogenic herb in vivo. This herb has been used for many years in folk medicine because of its antiseptic, antifever, antidyspeptic, antioxidant, antinociceptive, carminative and anti-inflammatory effects [16]. It also has febrifuge, analgesic, spasmolytic, antipyretic, diuretic, tranquilizer and stomachic properties [16], but its antimethanogenic properties have not been evaluated in vivo.

Similarly, herbs such as *Cosmos bipinnatus* (CB), a Mexican Asteraceae, have shown antimethanogenic properties in vitro [17] and in vivo in dairy cattle [18] but have never been tested in beef cattle, particularly those fed diets with high concentrate levels. Additionally, plants such as *Matricaria chamomilla* [MC] have never been evaluated in vivo, despite their high contents of flavonoids and other phenolic compounds, which have been identified in various parts of the MC flower [19]. Flavonoids such as quercetin have been shown to reduce the total population of protozoa and methanogens. In the case of methanogenic bacteria, flavonoids inhibit the synthesis of the bacterial cell wall, the cytoplasmic membrane, and nucleic acid synthesis, which is reflected in a decrease in

CH₄ production [20]. Using real-time PCR amplification, Oskoueian et al. [20] demonstrated that naringin and quercetin significantly reduced the total population of ruminal protozoa by reducing the efficiency of protozoa protein synthesis. Additionally, flavonoids improve fermentation efficiency by increasing propionate production to the detriment of acetate production, thus decreasing the population of methanogenic archaea. Using the in vitro gas production technique, Petrič et al. [19] investigated the effects of four individual medicinal plants, namely, wormwood, chamomile, fumitory, and mallow, and their mixture used as dietary substrates on ruminal and intestinal fermentation parameters, the total ciliate protozoan population, and total antioxidant capacity of rumen fluid. The authors concluded that the mixture of wormwood, chamomile, fumitory and mallow possessed a strong ruminal antioxidant capacity and showed the potential to reduce ruminal and intestinal CH₄ emissions and ammonia concentrations.

Therefore, the objectives of the present work were to evaluate in vivo the antimethanogenic effects of *C. citratus*, *M. chamomilla* and *C. bipinnatus* in beef cattle fed a finishing diet high in concentrates (forage:concentrate (F:C) ratio of 19.4:80.6) and the effects of increasing supplementation levels of *C. citratus*, i.e., 0%, 2%, 3% and 4% of the daily DMI, on enteric CH₄ emissions from beef cattle fed a total mixed ration (TMR) with an F:C ratio of 50.7:49.3. The doses of the supplemented plants were based on the antimethanogenic effects observed in previous experiments. For example, the dose of 365 g DM/d recommended by Hernández-Pineda et al. [18] was used for CB because a significant reduction in daily CH₄ production at this dose was reported by the authors. The dose of 100 g DM/d utilized by Wanapat et al. [14] was used for CC because at this dose, the authors observed a significant reduction in CH₄ production, and no information on the in vivo use of MC was found in the literature, so the same dose used for CB was applied based on the similar total tannin (TT) contents of the plants. We hypothesized that these herbs maintain in vivo the antimethanogenic effects observed in in vitro studies.

2. Materials and Methods

The study was carried out at the Laboratory for Research on Livestock, Environment and Renewable Energy of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science (LABRELE) of the Universidad Autónoma del Estado de México in Toluca, Mexico, located at 19°24'15" N and 99°41'06" W and 2632 m above sea level.

2.1. Experimental Procedures

Two experiments following a 4 × 4 Latin square design were conducted. Experiment 1 took place from 5 January to 29 May 2019. Experiment 2 was carried out from 25 September 2019, to 23 January 2020. All animals received humane care, and the experiments were authorized by the Institutional Subcommittee for the Care and Use of Experimental Animals, protocol DC2018/2-8, of the Universidad Nacional Autónoma de México. Before the start of each experiment, all the animals were dewormed with L-Vermizol® product, and were found to be clinically healthy.

2.2. Experiment 1

Eight Charolais × Brown Swiss steers with a 350.4 ± 67 kg live weight (LW) and 18 months of age were distributed in a replicated 4 × 4 Latin square experimental design. The animals were randomly assigned to each of four treatments. The experiment lasted 142 days, and the first 30 days were used for adaptation to a diet high in concentrates. The remaining 112 days were divided into four experimental periods of 28 days each. The DMI and apparent digestibility of DM (DigDM) were measured daily while the animals were in the respiration chambers. A long adaptation period was implemented to prevent the occurrence of ruminal acidosis and any other effects on animal welfare due to the high concentrate level in the diet. The F:C ratio of the CO diet was 19.4:80.6 on a DM basis. In the first two weeks of the adaptation period, the animals were offered a TMR, which contained an F:C ratio of 50:50 (on a DM basis). In week three, the F:C ratio was changed to 25:75, and in the last week, the CO

diet was offered. The diet adaptation period was considered adequate, and it was within the 10-to-14 day range suggested by Cochran and Galyean [21] for adaptation to a new diet. During this period, the animals were also adapted to the respiration chambers, they were taken twice per week to the chambers, where they were offered feed and water *ad libitum*. Each animal stayed inside the chambers for 8 to 10 h/d so that their DMI would not be affected during the assays. In total, each animal visited the chambers for eight days during the adaptation period. For each experimental period of 28 days, the first 21 days were used for adaptation to the experimental diet (treatment), and the remaining seven days were used for sampling (sampling period). Dry matter intake was measured from day 1 (the first day of the sampling period) to day 4. On day 5, the animals were taken in pairs to the respiration chambers to measure CH₄ emission for 48 h (one animal per chamber), with the experimental periods two days apart.

2.2.1. Treatments

Three herbs (treatments) supplemented at low doses were evaluated in addition to the CO diet. The CO diet (no herbs) was formulated to meet the metabolizable energy and protein requirements of the animals according to the Agricultural and Food Research Council (AFRC) [22]. The CO diet consisted of a TMR offered *ad libitum* and composed (on a DM basis) of 9.7% alfalfa hay, 9.7% oat hay, 5.7% soya bean meal, 68% steam-flaked corn, 4.9% molasses, and 1.9% protected fat (Palmalife[®], 100% African palm) to prevent hydrolysis in the rumen and potential antimethanogenic effects. Four treatments were evaluated: (1) control diet (CO), (2) CO + 365 g dry matter (DM)/d CB, (3) CO + 365 g DM/d MC, (4) CO + 100 g DM/d CC. Each steer received each treatment once during each of the four periods.

2.2.2. Herb Preparation

CB, an annual Asteraceae herb native to Mexico, was harvested in the Toluca Valley from August to September 2018. CC and MC were purchased from the local market, always from the same supplier. All the herbs were dried for a period of 8 weeks by laying them over metal mesh rack dryers placed 1 m above the floor at an ambient temperature of 22 °C, with a relative humidity of 25%, ample air circulation and no direct sunlight to prevent the denaturation of phenolic and other plant secondary compounds [23]. Once dried, the herbs were ground with a portable hammer mill equipped with 0.58-cm mesh (Bison MMRB-20 model, Aguascalientes, Mexico) and incorporated into the TMR to ensure that the animals would eat the entire daily herb ration provided. This is because the aim of the experiment was to evaluate the effects of the whole plants and not only the effects of their constituent phenolic compounds, essential oils (EOs) and other secondary metabolites. CC was purchased in two different batches, the first batch was purchased in October 2018 for Experiment 1. The second batch was purchased in July 2019 and was used for Experiment 2. Samples of the experimental plants were collected for later chemical analysis in the laboratory.

2.2.3. Measurements and Sampling of Feed and Stool

The DMI, DigDM, and CH₄ emissions of each animal in the respiration chambers were measured on days one and two. The feed offered on day one was weighed before the start of the assay, and the feeding time was always the same, at 10:00 am. A sample of 5% of the feed offered to each animal was taken daily, and composite samples were formed. Each composite sample of ~1 kg (fresh) was weighed, placed in a paper bag, identified, and dried in a forced-air oven at 60 °C for 72 h to determine its DM content [24]. The next day, before the morning feeding, the chambers were opened, and the ort from each animal was collected directly from the feeder, weighed, and sampled during the two days in the respiration chambers. The DMI/d was calculated as the feed offered minus the ort, both on a DM basis. The composite feed samples were stored in paper bags, identified and reserved for later laboratory analyses. The total production of feces by each animal in 24 h within the chambers was measured daily (two days). Most of the feces (approximately 95%) were collected in a stool container located under

the floor of the metabolic cage inside the respiration chamber. This container (1.20 m × 1.05 m) was covered with a wire screen, which separated feces and urine. The feces attached to the walls of the chamber and floor of the cage were removed and collected with a shovel. All feces collected in this way was placed in the bucket and weighed to determine apparent DigDM. A fecal sample of ~10% of the total feces produced by each animal was collected directly from the bucket, weighed, and dried in a forced-air oven at 60 °C for 120 h to determine its DM content [24]. Once dried, a composite sample was formed for each animal, placed in a paper bag, identified and reserved for later laboratory analyses. The animals were weighed weekly. At the same time, on days 1, 8, 15, and 22 of each experimental period, after the animals were fasted for 14–16 h, these four data points plus the starting weight data of the following experimental period were used to calculate the average daily LW gain (ADWG) per animal per experimental period.

2.2.4. Measurement of Methane Emissions

The LABRELE is equipped with two whole-animal open-circuit respiration chambers, as described in Canul-Solis et al. [25]. We used these chambers to measure methane emissions from cattle for 48 h, with one animal per chamber and two animals per run. The respiration chambers were designed following the principle of open-circuit indirect calorimetry [26,27] and were built following the design of Canul-Solis et al. [25]. The chambers were operated and calibrated as described by the previous authors. Briefly, before each assay, two calibrations of the chamber were performed: zero calibration using high-purity nitrogen (N₂) (Praxair Inc., Toluca, Mexico) and calibration against a reference gas, known as span gas. The N₂ used for zero calibration was first passed through a drying unit to remove moisture and then through the methane analyzer at a flow rate of 0.3 L/min until a zero reading was obtained. Span calibration was performed using a gas mixture with a known CH₄ concentration (1000 ppm CH₄ in high-purity N₂). The span gas was passed through the methane analyzer (model MA-10, Sable Systems International, Las Vegas, NV, USA) at a rate of 0.3 L/min to obtain a stable reading corresponding to the concentration of CH₄ in the span gas. The released methane volumes were kept constant by adjusting (10 psi) pressure regulators (Concoa 109–6504) to a controlled flow of 0.2 LPM by means of a flowmeter. The background CH₄ concentration was verified by injecting ambient air into the analyzer. The air samples were taken with a vacuum pump (PADIIVI.021, APT Instruments, Rochester, NY, USA) at the point of entry of air into the respiration chambers and were found to be negligible. The readings generated by the CH₄ analyzer were sent to a computer by means of a universal interface (Model UI2, Sable Systems International, Las Vegas, NV, USA), and the data were analyzed with ExpeData software (v.1.9.11, Sable Systems International, Las Vegas, NV, USA). The data from the methane analyzer were recorded and transferred to the computer in real time, and the concentration of CH₄ in the air coming from the chamber was measured every second. All the data from the 48 h measurement were used to calculate daily CH₄ emissions. Before the beginning of the experiment, a CH₄ recovery test was conducted as described by Arceo-Castillo et al. [28] for the types of chambers used in the present experiment, and a 100 ± 2% recovery rate was found.

The *Y_m* factor was calculated according to the Tier 2 level method for national inventories calculation of the IPCC [29], this calculation is based on the quotient of the energy lost in the form of methane per animal per day by the total gross energy intake of the same animal per day. The IPCC [2006] assumes that the energy loss as methane equals 55.22 MJ/kg CH₄ [30].

2.2.5. Chemical Analysis of the Feed and Stool

Before the laboratory analyses, the diet and fecal composite samples were dried in a forced-air oven at 60 °C for 72 h, ground, and passed through a 1-mm sieve. The DM and organic matter (OM) contents were determined according to the procedures of the Official Methods of Analysis [24]. The neutral (NDF) and acid detergent fiber (ADF) contents of the diet and stool samples were determined according to Van Soest et al. [31], heat-stable α-amylase was used for the NDF analyses of the diet and fecal samples. The gross energy (GE) content of the feces and feed was determined with an adiabatic bomb

calorimeter (Parr Instrument Company, Moline, IL, USA). The N content in the diet was determined according to the Kjeldahl method [24] and subsequently multiplied by a factor of 6.25 to obtain the protein content. The concentration of total phenols in the experimental herbs was determined with the Folin-Ciocalteu method, the tannin content was evaluated according to the polyvinylpyrrolidone method as described in Makkar et al. [23], and the condensed tannin content was assessed with the vanillin method as in Price et al. [32]. The chemical composition of the experimental diets and the polyphenol and tannin contents of the herbs are shown in Table 1.

Table 1. Chemical composition of the control diets used in Experiments 1 and 2 and polyphenol and tannin contents of the herbs used for Experiments 1 and 2 to reduce enteric methane emissions in beef cattle.

	Control Diet		Control Diet	
	Experiment 1	Experiment 2	Experiment 1	Experiment 2
DM (g/kg)	926.5 ± 7.8		963.4 ± 3.5	
OM (g kg/DM)	958.8 ± 7.6		938.4 ± 6.1	
CP (g kg/DM)	149.4 ± 4.9		117.2 ± 7.2	
EE (g kg/DM)	26.5 ± 2.0		15.7 ± 2.3	
CF (g kg/DM)	55.4 ± 5.3		149.0 ± 17.2	
NFC (g kg/DM)	731.9 ± 17.2		656.7 ± 17.6	
GE (MJ kg/DM)	18 ± 0.3		15.6 ± 0.4	
NDF (g kg/DM)	294.2 ± 128.5		426.9 ± 29.2	
ADF (g kg/DM)	76.2 ± 12.7		223.1 ± 24.7	
Herbs	<i>Matricaria chamomilla</i>	<i>Cosmos bipinnatus</i>	<i>Cymbopogon citratus</i>	
			Experiment 1	Experiment 2
TP (g kg/DM)	5.9	9.6	9.5	7.0
TT (g kg/DM)	3.9	3.6	3.3	9.9
CT (g kg/DM)	0.2	2.3	60.7	44.0
EE (g kg/DM)	-	-	1.9	1.9

DM = dry matter, OM = organic matter, CP = crude protein, EE = ether extract, CF = crude fiber, NFC = nonfiber carbohydrates, GE = gross energy, NDF = neutral detergent fiber, ADF = acid detergent fiber, TP = total phenols, TT = total tannins, CT = condensed tannins.

2.3. Experiment 2

A different control (CO) diet was used in this experiment due to animal welfare issues because four of the same animals used in the previous experiment were also used in this experiment and thus were exposed for a long time to the finishing diet. It is well established that beef cattle receiving diets high in concentrates suffer from parakeratosis-rumenitis, a liver abscess complex with a plethora of systemic manifestations [33]. The F:C ratio of this CO diet was 50.7:49.3 on a DM basis, and the diet was composed of 10% alfalfa hay, 20.1% oat hay, 20.6% maize stover, 9.1% soybean, 23.4% ground corn, 3.3% molasses and 13.4% bakery byproducts (cookie waste). The CO diet (no CC) was formulated to meet the metabolizable energy and protein requirements of the animals according to the AFRC [22]. We also used a Latin square experimental design and the same experimental procedures as described in Experiment 1. The four adult F1 Charolais × Brown Swiss steers with a 458 ± 59 kg LW and 26 months of average age were randomly assigned to each of four treatments. The treatments consisted of the (CO) diet with no CC, CO diet + 2% CC (2% CC), CO diet + 3% CC (3% CC) and CO diet + 4% CC (4% CC). The chemical composition of the control diet and the polyphenol and tannin contents of the CC used in this experiment are also shown in Table 1.

This experiment had a duration of 119 days, and the first two weeks were used to allow the animals to adapt to the experimental diet. The animals were already adapted to the chambers. The remaining 105 days were divided into four experimental periods of 26 days each. The first 19 days of each period were used for diet adaptation, days 20 to 26 constituted the sampling period, in which we recorded DMI, CH₄ emissions, and DigDM. Fecal and diet samples were collected as described before. The weighing and determination of ADWG were carried out as in the previous experiment. The methane production was measured for 48 h on days 24 to 26.

2.4. Statistical Model

The experimental data for Experiment 1 were analyzed with analysis of variance on the basis of a replicated Latin square experimental design, as shown in model 1. For Experiment 2, the same model was used but without the effect of the square,

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i(l) + T_j + P_k + S_l + \xi_{ijkl} \quad (1)$$

where Y_{ijkl} is the response variable of the i th animal ($i = 1, 2, 3, 4$) nested in the l th square ($l = 1, 2$) that received the j th treatment ($j = 1, 2, 3, 4$) during the k th period ($k = 1, 2, 3, 4$), μ is the overall mean of all observations, $A_{i(l)}$ is the random effect of the experimental animal nested in the l th square, T_j is the fixed effect of the treatment, P_k is the fixed effect of the period, S_l is the fixed effect of the square, and ξ_{ijkl} is the random error component. The residuals and random effects were assumed to be independent and normally distributed with a mean of zero and constant variance.

2.5. Analysis of the Results

Post hoc pairwise comparisons were conducted using Tukey's HSD test with the `lsmeans` function in the `lsmeans` package of R [34]. In Experiment 2, orthogonal polynomial contrast analyses were used to determine whether the effect of CC on variables that were statistically significant was linear, quadratic or cubic. The analytical procedures for the analysis of variance were performed using the `lmer` function of the `lme4` package [35] in R software [36]. For the polynomial contrasts, we used JMP v11.0.0 statistical software [37].

3. Results

Table 2 shows the effects of experimental herb supplementation on DMI, GE intake (GE_i), the digestibilities of DM (DigDM), NDF (DigNDF), ADF (DigADF) and GE (DigGE); and the variables related to the enteric CH₄ emissions in Experiment 1. There were no significant effects ($p > 0.05$) on DMI, DigDM, DigNDF, DigADF, DigGE or average daily CH₄ production. However, significant differences ($p < 0.05$) in methane yield (g of CH₄/kg of DMI), ADWG, the methane conversion factor known as the Y_m factor (energy of CH₄ as a percentage of GE_i), and CH₄ emission intensity (g of CH₄/kg of ADWG) were observed. The lowest CH₄ yields ($p < 0.05$) were observed in the CC and CB treatments, where they were 33% and 28% lower than those in the CO treatment, respectively. The lowest CH₄ emission intensity (g of CH₄/kg of ADWG) was observed in the CB treatment, followed by the CC treatment; similarly, the smallest values of the Y_m factor were observed in the CC and CB treatments, where they differed significantly ($p < 0.05$) from those in the CO and MC treatments. Supplementation with CB resulted in a significantly higher ($p = 0.03$) ADWG than that observed in the other treatments. The third highest LW gain was observed in the CC treatment, but this value was not significantly different ($p > 0.05$) from that obtained under the CO treatment.

Table 2. Effects of *Matricaria chamomilla*, *Cosmos bipinnatus* and *Cymbopogon citratus* supplementation on dry matter intake, digestibility, live weight gain and methane production in F1 beef steers on a finishing diet in Experiment 1.

	Treatments				SEM	p-Value
	CO	MC	CB	CC		
DMI (kg/d)	7.92	8.66	10.3	9.63	0.93	0.109
LW (kg)	390	373	395	392	21.8	0.196
DMI (%LW)	2.10	2.31	2.60	2.41	0.15	0.159
DigDM (%)	78.5	82.5	82.8	77.9	2.61	0.471
DigNDF (%)	80.6	83.0	79.7	83.2	2.09	0.455
DigADF (%)	64.0	64.2	56.9	59.7	3.56	0.484
DigGE (%)	78.6	84.1	84.4	80.2	2.37	0.210
ADWG (kg/d)	1.43 ^{ab}	0.88 ^b	1.81 ^a	1.29 ^{ab}	0.21	0.029
CH ₄ (g/d)	128	124	118	107	13.30	0.700
CH ₄ (g/kg of DMI)	16.3 ^a	14.3 ^{ab}	11.8 ^b	11.0 ^b	1.08	0.009
CH ₄ (g/kg ADWG)	132 ^a	149 ^a	67.5 ^b	103 ^{ab}	20.5	0.028
Y _m (%)	5.02 ^a	4.41 ^{ab}	3.62 ^b	3.38 ^b	0.33	0.009
GEi (MJ/d)	142	155	184	173	16.7	0.112
DEi (MJ/d)	113	131	157	143	16.7	0.136

CO = control diet; MC = *Matricaria chamomilla* (365 g DM/d); CB = *Cosmos bipinnatus* (365 g DM/d); CC = *Cymbopogon citratus* (100 g DM/d); DMI = dry matter intake; LW = live weight; DMI (%LW) = dry matter intake as a % of live weight; DigDM = digestibility of the dry matter; ADWG = average daily live weight gain; CH₄ = methane; CH₄ (g/kg of DMI) = methane yield; DigGE = digestibility of the gross energy intake; DigNDF = digestibility of the neutral detergent fiber; DigADF = digestibility of the acid detergent fiber; CH₄ (g/kg ADWG) = intensity of methane emission; Y_m = methane conversion factor, energy of CH₄ as a percentage of GEi; GEi = gross energy intake; DEi = digestible energy intake; SEM = standard error of the mean. Values in the same row with different superscripts letters ^{a,b} are significantly different ($p < 0.05$).

Table 3 shows the results for Experiment 2, where increasing supplementation levels of CC were evaluated. No significant differences were observed for DMI, ADWG, CH₄ yield, Y_m factor or CH₄ emission intensity ($p > 0.05$). Significant declines (linear $p < 0.05$; quadratic $p < 0.05$) in total daily CH₄ production were observed at the 2% and 3% CC supplementation levels, and a numerical reduction was observed at the 4% inclusion level, with 26%, 26.2% and 15% less CH₄ produced, respectively, than in the CO treatment. Numerical differences were observed for CH₄ yield at the 2% and 3% supplementation levels, where the yield was 12% and 15% less, respectively, than that in the CO treatment. A significant reduction (linear $p < 0.05$; quadratic $p = 0.04$) in DigDM at the 3% CC inclusion level was observed, but no effects were observed at the other two levels for this variable. However, DigNDF and DigADF declined as the supplementation level of CC increased in comparison with the CO treatment ($p < 0.05$). The declines in DigNDF (linear $p = 0.02$; quadratic $p = 0.002$) and DigADF (linear $p = 0.02$; quadratic $p = 0.01$) at 3% CC were accompanied by a significant reduction ($p < 0.05$) in total daily methane emissions in g/d, suggesting that the CC effect on CH₄ production was dose-dependent. Therefore, the 2% CC treatment reduced total methane emissions by 26% without affecting DigDM or ADWG. In contrast, the reduction in total daily CH₄ emission at the 3% CC supplementation level was associated with decreases in the digestibility of DM, NDF and ADF. However, this pattern was not repeated at the 4% inclusion level because supplementation with CC at this level reduced total daily CH₄ emissions only numerically, with no effect on DigDM ($p > 0.05$). We observed numerical declines ($p > 0.05$) in the Y_m factor in association with supplementation of CC, particularly at the 2% (Y_m = 5.9) and 3% (Y_m = 5.8) inclusion levels, in comparison with the CO treatment (Y_m = 7.0) (Table 3).

Table 3. Effects of increasing levels of *Cymbopogon citratus* supplementation on dry matter intake, digestibility, live weight gain and methane production in F1 beef steers fed a total mixed ration in Experiment 2.

	Experimental Diets				SEM	<i>p</i> -Value	Statistical Significance		
	CO	2% CC	3% CC	4% CC			L	Q	C
DMI (kg/d)	16.0	14.0	13.7	14.3	1.41	0.666	NS	NS	NS
LW (kg)	508	507	513	511	3.41	0.647	NS	NS	NS
DMI (%LW)	3.16	2.81	2.69	2.79	0.24	0.602	NS	NS	NS
DigDM (%)	76.2	69.9	65.5	72.2	2.46	0.050	0.05	0.04	NS
DigNDF (%)	71.8	65.2	54.9	66.6	1.73	0.003	0.02	0.002	0.02
DigADF (%)	71.1	63.8	56.0	64.7	1.86	0.007	0.02	0.01	NS
DigGE (%)	77.7	73.1	66.9	76.6	1.25	0.003	NS	0.001	0.02
ADWG (kg/d)	1.16	1.01	1.10	1.20	0.92	0.561	NS	NS	NS
CH ₄ (g/d)	308	228	227	261	22.9	0.050	0.05	0.05	NS
CH ₄ (g/kg of DMI)	20.0	17.6	16.9	19.9	1.21	0.262	NS	NS	NS
CH ₄ (g/kg ADWG)	291	230	236	252	29.5	0.511	NS	NS	NS
<i>Y_m</i> (%)	7.03	5.94	5.83	6.60	0.38	0.197	NS	NS	NS
GEi (MJ/d)	252	219	215	224	22.1	0.656	NS	NS	NS
DEi (MJ/d)	197	161	144	172	17.5	0.285	NS	NS	NS

CO = control diet; CC = *Cymbopogon citratus* inclusion level expressed on a DM basis; DMI = dry matter intake; LW = live weight; DMI (%LW) = dry matter intake as a % of live weight; DigDM = digestibility of the dry matter; ADWG = average daily live weight gain; CH₄ = methane; CH₄ (g/kg of DMI) = methane yield; DigGE = digestibility of the gross energy intake; DigNDF = digestibility of the neutral detergent fiber; DigADF = digestibility of the acid detergent fiber; CH₄ (g/kg ADWG) = intensity of methane emission; *Y_m* = methane conversion factor, energy of CH₄ as a percentage of GEi; GEi = gross energy intake; DEi = digestible energy intake; SEM = standard error of the mean. L, Q, and C: linear, quadratic and cubic effects, respectively.

4. Discussion

4.1. Methane Production

The CH₄ yield values obtained with the CO diet in Experiment 1 were similar to those reported in the literature, for example, van Lingen et al. [7] developed an intercontinental enteric CH₄ production database with 1021 individual animal records from beef cattle and calculated important variables such as the average daily emissions (g/d/animal) and CH₄ yield (g of CH₄/kg of DMI). The average yield of 15.2 ± 4.2 g of CH₄/kg of DMI for diets low in forage (<18% forage) reported by these authors is similar to the CH₄ yields reported in Table 2. Similarly, the CH₄ yield factor from Experiment 2 (Table 3) is similar to the 20.7 ± 4.7 g of CH₄/kg of DMI reported by van Lingen et al. [7] for beef cattle diets with more than 25% forage. The lower CH₄ yield observed in Experiment 1 for the CC and CB treatments in comparison with the CO treatment and the low total daily emissions observed in Experiment 2 suggest that these herbs reduced enteric CH₄ emissions in terms of CH₄ yield and daily emission in g/d, respectively. The total daily emission under CC supplementation was also numerically smaller (<16%) than that under the CO diet in Experiment 1, and 26% lower than that under the CO diet in Experiment 2 (*p* < 0.05), where a quadratic response (*p* < 0.05) to CC supplementation was also observed. The decreased CH₄ yield (*p* < 0.05) in Experiment 1 is partially the result of a numerical increase in DMI in the CB and CC treatments. However, this reduction in CH₄ yield cannot be solely explained by the increased DMI because there is sufficient evidence that CH₄ yield is not correlated or is poorly correlated with DMI [38,39]. Thus, lower methane yields not necessary is the result of higher DMI as other mechanisms are involved. According to Herd et al. [38], CH₄ yield is not correlated (*r* ± SE) with DMI (−0.02 ± 0.04). Similarly, Benaouda et al. [39] reported a correlation coefficient for DMI and CH₄ yield of only −0.133. Herd et al. [38] conducted a study to evaluate a number of methane measures that target CH₄ production independent of feed intake and to examine their phenotypic relationships with growth and body composition. The authors collected data from 777 young Angus bulls and heifers that were fed a roughage diet and measured for CH₄ production in open-circuit respiration chambers for 48 h. They concluded that reducing CH₄ production per se can have a negative impact on the growth and body composition of cattle due to decreased DMI. Reducing

CH₄ yield, however, will likely reduce CH₄ production without impacting productivity. Further, they reported that CH₄ yield was not correlated with DMI but was positively and strongly correlated with CH₄ production. This implies that reducing CH₄ yield as a GHG mitigation strategy will have no impact on DMI and hence maintain animal productivity but have the correlated effect of reducing CH₄ production, like in our Experiment 1.

The lack of a significant difference in total daily methane emission between the CC and CO treatments in Experiment 1 could also be explained by the high concentrate content of the basal diet. According to Van Kessel and Russell [40], diets high in concentrates reduce ruminal pH, and as methanogens are acutely pH-sensitive, it has been suggested that diets that are capable of reducing ruminal pH could serve as a practical means to achieve reductions in enteric CH₄ production. Thus, it is believed that at the low F:C ratio used in Experiment 1, methanogenesis was significantly reduced, with less potential for further reductions due to CC supplementation, a similar response was reported by Lovett et al. [41] with the use of coconut oil. This pattern was not observed in Experiment 2 because the potential for methane reduction was larger due to the higher forage content of the basal diet used in this experiment. Results for the *Y_m* factor in Experiment 1 seem to support this hypothesis because the observed *Y_m* values are similar to those reported for diets with a high inclusion of concentrates. For example, van Lingen et al. [7], reported an average *Y_m* value of 4.5 ± 1.2 ($n = 139$) for diets low in forage ($\leq 18\%$ forage). Our *Y_m* value for the CO treatment in Experiment 1 ($Y_m = 5.0$) is within the range reported by these authors. However, the highly significant lower *Y_m* values observed for the CC and CB treatments in comparison with the CO treatment could be explained by the antimethanogenic effect of the condensed tannin in the experimental herbs despite numerically higher DMI and GE_i observed in these treatments. On the contrary, van Lingen et al. [7] reported an average *Y_m* value of 6.3 ± 1.4 ($n = 882$) for diets higher in forage ($\geq 25\%$ forage), which is similar to the $Y_m = 7.0$ obtained in the present work. Thus, increasing levels of CC supplementation in Experiment 2 seem to explain the decrease in the *Y_m* factor because the *Y_m* factor passed from 7.0 in the CO treatment to 5.8 in 3% CC treatment; meaning that less energy from the feed was lost as CH₄. However, this difference was only numerical, so more research is necessary to clarify the role of CC on energy partitioning in the animal. Our results are similar to those reported by Lovett et al. [41], in a study conducted with 36 finishing heifers to investigate the effect of coconut oil on methane production. They evaluated six experimental diets, with different F:C ratios, 65:35, 40:60, and 10:90, supplemented with two levels of coconut oil (0 or 350 g/d). They found that the *Y_m* factor decreased from 6.06 to 4.44 as the inclusion level of forage in the diet decreased from 65% to 10%, with a quadratic effect, as in the present work. These authors also observed that coconut oil levels of 0 g/d and 350 g/d resulted in *Y_m* factors of 6.60 and 4.83, respectively, which represent a decrease of 26% in the *Y_m* factor. In our Experiment 1, we found that *Y_m* factor decreased by 28 and 32% due to the supplementation of CB and CC, respectively, compared to the CO diet.

The reduction in CH₄ production could also be attributed to the high condensed tannin content, particularly in the CC diet (Table 1). Several studies have demonstrated that the antimethanogenic activity of phenolic compounds can be attributed to condensed tannins in plants [42,43]. According to Bhatta et al. [44], tannins suppress methanogenesis directly by reducing the methanogenic population in the rumen or indirectly by reducing protozoa. The symbiosis between methanogenic archaea and protozoa in the rumen is well established [45]. According to Kazunari [46], ciliated protozoa are the principal component of the rumen microbiota because they contribute up to 50% of the biomass in the rumen [47] and significantly contribute to the digestion of ruminants [46]. As anaerobic fermentative microorganisms, rumen ciliated protozoa produce a significant amount of hydrogen (interspecies hydrogen transfer between protozoa and archaea by which both can grow faster) and formate. Methanogenic archaea are closely associated with ciliated rumen protozoa [48] and therefore with CH₄ emission. Protozoa produce butyrate and acetate, two VFAs whose production releases 2 and 4 moles of H₂, respectively, per mole of fermented glucose, half of this H₂ is used by methanogenic archaea [49]. This group of bacteria is usually found on the surface of (ectosymbiosis) or inside

(endosymbiosis) protozoa, benefiting from the H₂ released by protozoa and producing CH₄, the main source of energy necessary for the growth of methanogenic archaea [50]. Condensed tannins can also reduce methane emissions by indirectly decreasing H₂ production as a result of decreased fiber digestion by protozoa [51]. This could be observed in Experiment 2, where DigDM, DigNDF, and DigADF were reduced by including CC in the basal diet. Moreover, this effect is in line with that reported by Newbold et al. [47], who mentioned that eliminating protozoa from the rumen significantly decreased rumen OM digestibility (−7%), particularly NDF (−20%) and ADF (−16%) digestibility, probably because of the loss of protozoal fibrolytic activity. Unfortunately, in the present work, we did not measure the effect of CC on the protozoa in experimental animals. However, our results suggest that the condensed tannins in CC probably affected the population of ruminal protozoa, and thus fiber degradation and, as a consequence, CH₄ production were also reduced. Previous studies conducted by our group indicated that the tannins in *C. bipinnatus* can reduce enteric CH₄ yield in dairy cattle fed a diet with an F:C ratio of 62:38 by 16% in comparison with that in a control diet [18]. Similarly, Gomaa et al. [17] demonstrated that the inclusion of CC at a 10% level reduced in vitro CH₄ production by 14.5%.

There have been few studies on the effects of CC on enteric CH₄ production. Wanapat et al. [15] conducted an in vitro study to evaluate the effects of supplementing the diet with different levels of powdered CC (0, 100, 200 and 300 g of dry CC/d) on rumen ecology, rumen microorganisms and the digestibility of nutrients in beef cattle and found that the protozoal population significantly declined from 6.3×10^6 to 4.6×10^6 regardless of the CC dose. Wanapat et al. [15] also reported that the supplementation of CC powder at 200 and 300 g/d decreased bacterial populations relative to those under 100 g/d of CC powder, possibly due to decreases in gram-positive bacteria, because gram-positive bacteria appeared to be more susceptible than gram-negative bacteria to inhibition by plant EOs compounds. In a similar study, Wanapat et al. [14] showed that CC alone (100 g DM/d) or in association with peppermint (10 g DM/d) and garlic (40 g DM/d) reduced the communities of protozoa and bacteria; CC also reduced DM digestibility and CH₄ emissions in beef cattle. However, it is important to stress that Wanapat et al. [14] estimated CH₄ production and did not measure it. Some in vitro studies have also shown that *Cymbopogon* species can affect protozoan populations and CH₄ production. For example, Bhatta et al. [9] conducted a study to evaluate the potential of secondary plant metabolites from 38 sources to serve as antimethanogenic additives in ruminant diets. They found that *Cymbopogon martinii* reduced the protozoan population by up to 19% and CH₄ production by 4.5%, even when the condensed tannin content of the plant used was negligible. Therefore, this reduction may be attributed to other secondary metabolites present in CC, such as EOs or hydrolysable tannins (HTs = 1.58 g/kg DM). The reduction in fiber digestion was more clearly observed in Experiment 2 at all supplementation levels.

Total daily CH₄ production and CH₄ yield were higher in Experiment 2, this was expected because the F:C ratio of the basal diet in the former was 50.7:49.3. It is well established that both daily CH₄ emission and CH₄ emission per unit of DMI increase with forage content in the diet as a result of increased NDF intake [52], provided that the forage is sufficiently digestible [53]. Thus, the reductions in CH₄ production associated with the 2% and 3% CC supplementation levels in this experiment could be consequences of a reduction in the digestibility of fiber in the diet. This reduction in CH₄ production could (partially) be attributed to the high polyphenol and tannin contents in the CC used, which may have affected fiber-degrading bacteria and protozoa. For example, the polyphenol content of CC (7 g/kg DM) used in Experiment 2 (Table 1) was almost twice that (2.6 to 3.8 g/kg DM) reported by Thorat et al. [54]. Similarly, the TT content (9.9 g/kg DM) of our CC was higher than that (6 g/kg DM) reported by Avoseh et al. [55]. Moreover, the TT content of the CC used in Experiment 2 was three times higher than that used in Experiment 1 (Table 1). In contrast, the condensed tannin (CT) content in the CC used in Experiment 2 was lower than that in Experiment 1. However, the total daily intake of CT by animals in Experiment 2 was more than two times higher than that in Experiment 1 because of the higher CC intake, e.g., 195 g DM/d for the 2% CC treatment.

The antimethanogenic activity of CC could also be explained by EOs contained in this plant, particularly citral (3,7-dimethyl-2,6-octadien-1-ol) [56]. According to Patra et al. [51], methanogens may be directly or indirectly inhibited by EOs via the inhibition of protozoa and H₂-producing bacteria in the rumen. CC EOs have been found to contain up to 75–85% citral [57]. Many EOs have dose-dependent effects on bacteria, protozoa, and fungi [58]. For example, Joch et al. [59] investigated the effects of 11 active compounds of EOs (1000 µL/L of diluted rumen fluid), such as eugenol, carvacrol, citral, limonene, 1,4-cineole, p-cymene, linalool, bornyl acetate, α-pinene, and β-pinene, on rumen fermentation and CH₄ production and found that citral reduced CH₄ production by 44% and limonene by 23%; both compounds are present in CC EOs. Similarly, Ram Kumar et al. [60] conducted a study to investigate the in vitro rumen fermentation profiles of two different diets, namely, oat hay only or a mixture of oat hay and concentrate in a 60:40 ratio supplemented with graded levels (0.0, 10, 20, 40 and 80 µL/40 mL of buffered rumen liquor) of CC EOs, in buffered buffalo rumen inoculum. They found that the CH₄ concentration in the headspace gas decreased linearly with an increasing concentration of CC EOs irrespective of diet and that the reduction ranged from 31% to 100% at the lowest and highest doses of CC EOs, respectively.

However, more research on the use of CC to reduce enteric methane emissions is necessary because the concentrations of EOs and polyphenols in CC can change with various factors, such as geographic location [61], cultivation method, harvesting time, controlled oxidation, and withering conditions [16]. This may explain why some authors have not found any effects of CC in reducing enteric methane emissions, for example, Nanon et al. [62] reported no effect of CC oil supplementation (200 mg/kg diet) to a diet consisting of forage and concentrate on DM degradability or CH₄ production when using a rumen simulation technique. Therefore, it is suggested that those who wish to replicate the present study select an appropriate *Cymbopogon* species and harvest it when the concentrations of polyphenols and EOs are the highest. Chemical analyses are necessary to confirm the appropriate concentration of secondary metabolites before the beginning of the experiment. This requisite is relevant because it is well established that the concentrations of EOs and tannins in CC vary throughout the year [63]. Otherwise, it may be possible to obtain a result different from that described in our work. Finally, careless handling of CC may lead to the loss of its critical antimethanogenic components, which emphasizes the importance of adequately processing and preserving CC before using it in similar research.

Other compounds present in CC, such as flavonoids, can affect ruminal CH₄ production. Quercetin and kaempferol are two flavonoids found in CC in significant quantities [55], and according to Oskoueian et al. [20], flavonoids can modulate rumen fermentation by selectively reducing VFAs production, DigDM and CH₄ production. Thus, the addition of kaempferol (in its pure form) significantly reduced the populations of almost all of the rumen microorganisms in in vitro assays [20]. Thus, a reduction in CH₄-producing microorganisms is reflective of a decrease in CH₄ production. In contrast, quercetin and naringin at a concentration of 4.5% (*w/w*) of the substrate suppressed in vitro CH₄ production and decreased rumen protozoa and methanogen populations without affecting DigDM and other fermentation parameters. Apparently, flavonoids such as kaempferol affect the activity of microbial enzymes such as xylanase and carboxymethylcellulase, which are involved in the degradation of hemicellulose (DigNDF) and cellulose (DigADF), respectively. However, more research is necessary to evaluate the effects of CC flavonoids on in vivo ruminal CH₄ production. Thus, the effect of CC on reducing rumen CH₄ production may also be the result of the joint action of CTs, flavonoids, and EOs on rumen microbes [20].

4.2. Digestibility, Dry Matter Intake, and Live Weight Changes

The effects of herbs on ADWG need to be evaluated in a further study. The short experimental periods in the current study were insufficient to obtain reliable ADWG results; in this regard, the present ADWG results should be considered preliminary and interpreted with caution. We are also cautious with regard to the DMI results, as large numerical differences could not be identified as statistically

significant. Significant reductions in DigDM, DigNDF, and DigADF were observed in Experiment 2 at the 3% CC inclusion level, which were associated with a reduction in LW gain. A similar effect on digestibility was reported by Ram Kumar et al. [60], where truly degradable DM was reduced in all the treatments except that with a low level of CC oil in both dietary substrate groups. The reductions in DigDM, DigNDF, and DigADF at relatively high doses of CC could be due to the inhibition of fiber-degrading bacteria. This can explain the low DigNDF and DigADF in diets with different levels of CC in Experiment 2, which directly affected the digestibility of energy, and therefore the numerically lower DMI when CC was supplemented. Although we did not measure the effect of CC on rumen bacteria, evidence in the literature suggests that gram-positive bacteria are more susceptible to inhibition by plant EOs compounds than are gram-negative bacteria [64]. However, other authors have stated that the major bioactive compounds identified in CC EOs, namely, α -citral (geranial) and β -citral (neral), exhibit antibacterial activity by inhibiting the growth of both gram-positive and gram-negative bacteria [16]. This idea is in line with the finding of Wanapat et al. [14], who reported a reduction in bacterial count upon supplementation of the diet of cattle with CC powder at a dose of 200 g/d but not 100 g/d.

Finally, the results suggest that supplementation with CB reduced the enteric CH₄ yield and the intensity of CH₄ emission without affecting the digestibility of the basal diet or the fiber fraction. Furthermore, CB did not affect ADWG because the largest weight gain was observed in this treatment, which was associated with low CH₄ emission. This result is in line with previous findings reported by Hernández-Pineda et al. [18] and Min et al. [65]. Min et al. conducted a study to determine the effects of quebracho CT supplementation on the in vitro ruminal fluid gas production, in vivo ruminal fluid protein fractions, bloat dynamics, and ADWG of steers grazing on winter wheat. The authors reported an ADWG of 2.09 kg/day for steers supplemented with 1% CT/kg of DMI and grazing on winter wheat. According to Min et al. [65], the combination of increasing bypass protein flow to the small intestine and decreasing frothy bloat and CH₄ production due to CT likely led to the 15% increase in ADWG observed with CT supplementation of steers grazing on wheat forage. The effect of CB on ADWG needs further evaluation because it may be necessary to use more extended experimental periods than those used in the present work. For example, a completely randomized design with more animals and experimental periods of up to 40 days could be used.

5. Conclusions

It was concluded that *Cosmos bipinnatus* and *Cymbopogon citratus* decreased in vivo methane production by beef cattle; the effects on CH₄ production were dependent on diet and the dose and tannin content of these herbs. On the contrary, no antimethanogenic effect was observed by chamomile. On the other hand, these herb effects on animal performance in both experiments and on digestibility in Experiment 1 should be considered preliminary as more research is necessary. It is also concluded that supplementation of CC at levels above 190 g DM/d can reduce daily CH₄ production but at the expense of reducing the digestibility of DM, and fiber fractions of diets. To the best of our knowledge, this was the first study in which the response of CH₄ production to CC supplementation was measured in vivo.

Author Contributions: O.A.C.-O. conceived the work, designed the study, obtained the funding and wrote the manuscript. M.F.V.-C. conducted the experiments, performed the statistical analyses and wrote the manuscript. H.D.M.-P. provided technical support in the operation of the respiration chambers and methane emission measurements. M.G.-R. and E.C.-G. discussed the results and revised the manuscript. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The authors acknowledge financial support from WeBelievers, New York, NY, USA; the Universidad Autónoma del Estado de México; and the National Council for Science and Technology of Mexico (Grant CONACYT-223418), which made the present work possible. CONACYT-MEXICO also provided a grant for the Ph.D. studies of María Fernanda Vázquez-Carrillo.

Acknowledgments: We acknowledge the technical support of Edgar Aranda-Aguirre, Eduardo Cardoso-Gutiérrez, Paulina Guadarrama-Gómez, Daniela Villegas-Estrada and Ivana Alexandra Porcayo-Monroy, who assisted in the handling and welfare of experimental animals.

Conflicts of Interest: The authors declare that this study received partial funding from WeBelievers LLC, New York, NY, USA, and that the funder was not involved in the study design, collection, analysis, interpretation of data, the writing of this article, or the decision to submit it for publication. Burger King purchased the lemongrass processing method and using procedure (originated from our research) from WeBelievers after all the research was completed.

References

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Las Repercusiones del Ganado en el Medio Ambiente. Available online: <http://www.fao.org/ag/esp/revista/0612sp1.htm> (accessed on 7 April 2020).
2. Eckard, R.J.; Grainger, C.; de Klein, C.A.M. Options for the abatement of methane and nitrous oxide from ruminant production: A review. *Livest. Sci.* **2010**, *130*, 47–56. [CrossRef]
3. United States Environmental Protection Agency. Inventory of U.S. Greenhouse Gas Emissions and Sinks: 1990–2018. Methane Emissions. Available online: <https://www.epa.gov/ghgemissions/overview-greenhouse-gases#methane> (accessed on 8 September 2020).
4. United States Environmental Protection Agency. Greenhouse Gas Inventory Data Explorer. Available online: <https://cfpub.epa.gov/ghgdata/inventoryexplorer/#agriculture/allgas/source/current> (accessed on 7 April 2020).
5. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Ganadería. Available online: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QA> (accessed on 7 April 2020).
6. Niu, M.; Kebreab, E.; Hristov, A.N.; Oh, J.; Arndt, C.; Bannink, A.; Bayat, A.R.; Brito, A.F.; Boland, T.; Casper, D.; et al. Prediction of enteric methane production, yield, and intensity in dairy cattle using an intercontinental database. *Glob. Chang. Biol.* **2018**, *24*, 3368–3389. [CrossRef]
7. van Lingen, H.J.; Niu, M.; Kebreab, E.; Valadares, F.S.C.; Rooke, J.A.; Duthie, C.-A.; Schwarm, A.; Kreuzer, M.; Hynd, P.I.; Caetano, M.; et al. Prediction of enteric methane production, yield and intensity of beef cattle using an intercontinental database. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2019**, *283*, 106575. [CrossRef]
8. Patra, A.K.; Kamra, D.N.; Agarwal, N. Effect of spices on rumen fermentation, methanogenesis and protozoa counts in vitro gas production test. *Int. Congr. Ser.* **2006**, *1293*, 176–179. [CrossRef]
9. Bhatta, R.; Saravanan, M.; Baruah, L.; Sampath, K.T.; Prasad, C.S. Effect of plant secondary compounds on in vitro methane, ammonia production and ruminal protozoa population. *J. Appl. Microbiol.* **2013**, *115*, 455–465. [CrossRef] [PubMed]
10. McGuffey, R.K.; Richardson, L.F.; Wilkinson, J.I.D. Ionophores for dairy cattle: Current status and future outlook. *J. Dairy. Sci.* **2001**, *84*, E194–E203. [CrossRef]
11. Appuhamy, J.; Strathe, A.B.; Jayasundara, S.; Wagner-Riddle, C.; Dijkstra, J.; France, J.; Kebreab, E. Anti-methanogenic effects of monensin in dairy and beef cattle: A meta-analysis. *J. Dairy. Sci.* **2013**, *96*, 5161–5173. [CrossRef]
12. Agarwal, N.; Shekhar, C.; Kumar, R.; Chaudary, L.; Kamra, D. Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on in vitro methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2009**, *148*, 321–327. [CrossRef]
13. Gallegos-Flores, P.; Bañuelos-Valenzuela, R.; Delgadillo-Ruiz, L.; Echavarría-Cháirez, F.; Meza-López, C.; Rodríguez-Tenorio, D. Evaluación diferencial de extractos de orégano en la producción de ácidos grasos volátiles y metano durante fermentación ruminal in vitro. *Abanico Vet.* **2019**, *9*, e91. [CrossRef]
14. Wanapat, M.; Kang, S.; Khejornsart, P.; Wanapat, S. Effects of plant herb combination supplementation on rumen fermentation and nutrient digestibility in beef cattle. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* **2013**, *26*, 1127–1136. [CrossRef]
15. Wanapat, M.; Cherdthong, A.; Pakdee, P.; Wanapat, S. Manipulation of rumen ecology by dietary lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf.) powder supplementation. *J. Anim. Sci.* **2008**, *86*, 3497–3503. [CrossRef]
16. Olorunnisola, S.K.; Hammed, A.M.; Simsek, S. Biological properties of lemongrass: An overview. *Int. Food Res. J.* **2014**, *21*, 455–462.

17. Gomaa, R.M.M.; González-Ronquillo, M.; Arredondo-Ramos, J.; Molina, L.T.; Castelán-Ortega, O.A. Effect of tanniferous plants on in vitro digestion and methane production. *Ecosistemas Recur. Agropecu.* **2017**, *4*, 371–380. [[CrossRef](#)]
18. Hernández-Pineda, G.S.; Beltrán-Pedraza, P.E.; Benaouda, M.; García-Palma, J.M.; Nova-Avilés, F.; Molina, L.; Ortega, O.A.C. *Pithecellobium dulce*, *Tagetes erecta* and *Cosmos bipinnatus* on reducing enteric methane emission by dairy cows. *Cienc. Rural* **2018**, *48*, e20170484. [[CrossRef](#)]
19. Petrič, D.; Mravčáková, D.; Kucková, K.; Čobanová, K.; Kišidayová, S.; Cieslak, A.; Ślusarczyk, S.; Váradyová, Z. Effect of dry medicinal plants (wormwood, chamomile, fumitory and mallow) on in vitro ruminal antioxidant capacity and fermentation patterns of sheep. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **2020**, *104*, 1219–1232. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Oskoueian, E.; Abdullah, N.; Oskoueian, A. Effects of flavonoids on rumen fermentation activity, methane production, and microbial population. *Biomed. Res. Int.* **2013**, *2013*, 1–8. [[CrossRef](#)]
21. Cochran, R.C.; Galyean, M.L. Measurement of in vivo Forage Digestion by Ruminants. In *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*; Fahey, G.C., Ed.; American Society of Agronomy: Madison, WI, USA, 2015; pp. 613–643.
22. Alderman, G.; Cottrill, B.R. *Energy and Protein Requirements of Ruminants. An Advisory Manual Prepared by the AFRC Technical Committee on Responses to Nutrients*; CAB International: Wallingford, UK, 1993.
23. Makkar, H.P.S.; Blümmel, M.; Borowy, N.K.; Becker, K. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *J. Sci. Food Agric.* **1993**, *61*, 161–165. [[CrossRef](#)]
24. AOAC International. *Official Methods of Analysis of AOAC International*; AOAC International: Arlington, TX, USA, 1995.
25. Canul-Solis, J.R.; Piñeiro-Vázquez, A.T.; Arceo-Castillo, I.J.; Alayón-Gamboa, J.A.; Ayala-Burgos, A.J.; Aguilar Pérez, C.F.; Solorio Sánchez, F.J.; Castelán Ortega, O.A.; LachicaLópez, M.; Quintana Owen, P.; et al. Design and construction of low-cost respiration chambers for ruminal methane measurements in ruminants. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* **2017**, *8*, 185–192. [[CrossRef](#)]
26. Pinares-Patino, C. *Technical Manual on Respiration Chambers*; Ministry of Agriculture and Forestry: Wellington, New Zealand, 2014. [[CrossRef](#)]
27. Lighton, J. *Measuring Metabolic Rates: A Manual for Scientists*; Oxford University Press: Oxford, UK, 2008. [[CrossRef](#)]
28. Arceo-Castillo, J.; Montoya-Flores, M.D.; Molina-Botero, I.C.; Piñeiro-Vázquez, A.T.; Aguilar-Pérez, C.; Ayala-Burgos, A.J.; Sánchez, F.J.S.; Castelan-Ortega, O.A.; Quintana-Owen, P.; Ku-Vera, J.C. Effect of the volume of methane released into respiration chambers on full system methane recovery. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2019**, *2494*, 5–61. [[CrossRef](#)]
29. Dong, H.; Mangino, J.; McAllister, T.A.; Hatfield, J.L.; Johnson, D.E.; Lassey, K.R.; de Lima, M.A.; Romanovskaya, A. Chapter 10: Emissions from Livestock and Manure Management. In *2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories*; Eggleston, H.S., Buendia, L., Miwa, K., Ngara, T., Tanabe, K., Eds.; Institute for Global Environmental Strategies (IGES): Hayama, Kanagawa, 2006; Volume 4, pp. 10.1–10.87.
30. Brouwer, E. Report of subcommittee on constants and factors. In *Energy Metabolism, Proceedings of the 3rd Symposium, Troon, Scotland, May 1964*; Blaxter, K.L., Ed.; Academic Press: London, UK, 1965; pp. 441–443.
31. Van Soest, P.J.; Robertson, J.B.; Lewis, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* **1991**, *74*, 3583–3597. [[CrossRef](#)]
32. Price, M.L.; Van Scoyoc, S.; Butler, L.G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agr. Food Chem.* **1978**, *26*, 1214–1218. [[CrossRef](#)]
33. Nagaraja, T.G.; Titgemeyer, E.C. Ruminal acidosis in beef cattle: The current microbiological and nutritional outlook. *J. Dairy Sci.* **2007**, *90*, E17–E38. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Lenth, V.R. Least-squares means: The R package lsmeans. *J. Stat. Softw.* **2016**, *69*, 1–33. [[CrossRef](#)]
35. Bates, D.; Mächler, M.; Bolker, B.; Walker, S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J. Stat. Softw.* **2015**, *67*, 1–48. [[CrossRef](#)]
36. R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2016.
37. JMP®, Version 11.0.0; SAS Institute Inc.: Cary, NC, USA, 1989–2019.

38. Herd, R.M.; Arthur, P.F.; Donoghue, K.A.; Bird, S.H.; Bird-Gardiner, T.; Hegarty, R.S. Measures of methane production and their phenotypic relationships with dry matter intake, growth, and body composition traits in beef cattle. *J. Anim. Sci.* **2014**, *92*, 5267–5274. [[CrossRef](#)]
39. Benaouda, M.; González-Ronquillo, M.; Appuhamy, J.; Kebreab, E.; Molina, L.T.; Herrera-Camacho, J.; Ku-Vera, J.C.; Ángeles-Hernández, J.C.; Castelán-Ortega, O. Development of mathematical models to predict enteric methane emission by cattle in Latin America. *Livest. Sci.* **2020**, *241*, 104177. [[CrossRef](#)]
40. Van Kessel, J.A.S.; Russell, J.B. The effect of pH on ruminal methanogenesis. *FEMS Microbiol. Ecol.* **1996**, *20*, 205–210. [[CrossRef](#)]
41. Lovett, D.; Lovell, S.; Stack, L.; Callan, J.; Finlay, M.; Conolly, J.; O'Mara, F. Effect of forage/concentrate ratio and dietary coconut oil level on methane output and performance of finishing beef heifers. *Livest. Prod. Sci.* **2003**, *84*, 135–146. [[CrossRef](#)]
42. Piluzza, G.; Sulas, L.; Bullitta, S. Tannins in forage plants and their role in animal husbandry and environmental sustainability: A review. *Grass Forage Sci.* **2014**, *69*, 32–48. [[CrossRef](#)]
43. Naumann, H.D.; Tedeschi, L.O.; Zeller, W.E.; Huntley, N.F. The role of condensed tannins in ruminant animal production: Advances, limitations and future directions. *Rev. Bras. Zootec.* **2017**, *46*, 929–949. [[CrossRef](#)]
44. Bhatta, R.; Uyeno, Y.; Tajima, K.; Takenaka, A.; Yabumoto, Y.; Nonaka, I.; Enishi, O.; Kurihara, M. Difference in the nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. *J. Dairy Sci.* **2009**, *92*, 5512–5522. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Vogels, G.D.; Hoppe, W.F.; Stumm, C.K. Association of methanogenic bacteria with rumen ciliates. *Appl. Environ. Microbiol.* **1980**, *40*, 608–612. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Kazunari, U. *Symbiotic Methanogens and Rumen Ciliates, in (Endo) Symbiotic Methanogenic Archaea*; Johannes, H.P.H., Ed.; Springer: London, UK, 2010; pp. 25–34.
47. Newbold, C.J.; de la Fuente, G.; Belanche, A.; Ramos-Morales, E.; McEwan, N.R. The Role of Ciliate Protozoa in the Rumen. *Front. Microbiol.* **2015**, *6*, 1313. [[CrossRef](#)]
48. Hook, S.E.; Wright, A.D.; McBride, B.W. Methanogens: Methane producers of the rumen and mitigation strategies. *Archaea* **2010**, *2010*, 945785. [[CrossRef](#)]
49. Guyader, J.; Maguy, E.; Pierre, N.; Morgavi, D.; Doreau, M.; Martin, C. Influence of rumen protozoa on methane emission in ruminants: A meta-analysis approach. *Animal* **2014**, *8*, 1–10. [[CrossRef](#)]
50. Popova, M.; Morgavi, P.D.; Doreau, M.; Martin, C. Production de méthane et interactions microbiennes dans le rumen. *INRA Prod. Anim.* **2011**, *24*, 447–460. [[CrossRef](#)]
51. Patra, A.; Park, T.; Kim, M.; Yu, Z. Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* **2017**, *8*, 13. [[CrossRef](#)]
52. Aguerre, M.J.; Wattiaux, M.A.; Powell, J.M.; Broderick, G.A.; Arndt, C. Effect of forage-to-concentrate ratio in dairy cow diets on emission of methane, carbon dioxide, and ammonia, lactation performance, and manure excretion. *J. Dairy Sci.* **2011**, *94*, 3081–3093. [[CrossRef](#)]
53. Benaouda, M.; Apodaca-Martínez, G.; González-Ronquillo, M.; Castelán-Ortega, O.A. Effect of increasing levels of dietary fibre and fibre digestibility on methane production in dairy cattle. In Proceedings of the 10th International Symposium on the Nutrition of Herbivores, Clermont-Ferrand, France, 2–6 September 2018; Baumont, R., Silberbeg, M., Cassar-Malek, I., Eds.; Cambridge University Press: Cambridge, UK, 2018. Abstract Number 595.
54. Thorat, P.; Sawate, A.; Kadam, S.; Patil, B. Effect of drying on phytochemical composition of lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) powder. *Ann. Phytomed.* **2018**, *7*, 183–188. [[CrossRef](#)]
55. Avoseh, O.; Oyediji, O.; Rungqu, P.; Nkeh-Chungag, B.; Oyediji, A. *Cymbopogon* species; ethnopharmacology, phytochemistry and the pharmacological importance. *Molecules* **2015**, *20*, 7438–7453. [[CrossRef](#)]
56. Anggraeni, N.I.; Hidayat, I.W.; Rachman, S.D.; Ersanda. Bioactivity of essential oil from lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf) as antioxidant agent. In Proceedings of the 1st International Conference and Exhibition on Powder Technology Indonesia ICePTi 2017, Jatnanangor, Indonesia, 8–9 August 2017; Joni, M.I., Panatarani, C., Eds.; AIP Publishing: Melville, NY, USA, 2018; pp. 0300071–0300075. [[CrossRef](#)]
57. Balakrishnan, B.; Sadayan, P.; Abimannan, A. Evaluation of the lemongrass plant (*Cymbopogon citratus*) extracted in different solvents for antioxidant and antibacterial activity against human pathogens. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **2014**, *4*, S134–S139. [[CrossRef](#)]
58. Greathead, H. Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proc. Nutr. Soc.* **2003**, *62*, 279–290. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

59. Joch, M.; Cermak, L.; Haki, J.; Hucko, B.; Duskova, D.; Marounek, M. In vitro screening of essential oil active compounds for manipulation of rumen fermentation and methane mitigation. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* **2016**, *29*, 952–959. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Ram Kumar, S.; Avijit, D.; Shyam, S.P.; Mala, S.; Punia, B.S. Responses of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oils supplementation on in vitro rumen fermentation parameters in buffalo. *Indian J. Anim. Nutr.* **2018**, *35*, 174–179. [[CrossRef](#)]
61. Godwin, A.; Daniel, G.A.; Shadrack, D.; Elom, S.A.; Nana Afua, K.A.-B.; Godsway, B.; Joseph, K.G.; Sackitey, N.O.; Isaak, K.B.; Wisdom, A. Determination of elemental, phenolic, antioxidant and flavonoid properties of lemon grass (*Cymbopogon citratus* Stapf). *Int. Food Res. J.* **2014**, *21*, 1971–1979.
62. Nanon, A.; Suksombat, W.; Beauchemin, K.A.; Yang, W.Z. Short Communication: Assessment of lemongrass oil supplementation in a dairy diet on in vitro ruminal fermentation characteristics using the rumen simulation technique. *Can. J. Anim. Sci.* **2014**, *94*, 731–736. [[CrossRef](#)]
63. Tajidin, N.E.; Ahmad, S.H.; Rosenani, A.B.; Azimah, H.; Munirah, M. Chemical composition and citral content of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil at three maturity stages. *Afr. J. Biotechnol.* **2012**, *11*, 2685–2693. [[CrossRef](#)]
64. Davidson, P.M.; Naidu, A.S. Phyto-phenols. In *Natural Food Antimicrobial Systems*; Naidu, A.S., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2000; pp. 265–293.
65. Min, B.R.; Pinchak, W.E.; Anderson, R.C.; Fulford, J.D.; Puchala, R. Effects of condensed tannins supplementation level on weight gain and in vitro and in vivo bloat precursors in steers grazing winter wheat. *J. Anim. Sci.* **2006**, *84*, 2546–2554. [[CrossRef](#)]



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Capítulo IV

EMISIONES DE METANO POR FERMENTACIÓN ENTÉRICA DE LA GANADERÍA BOVINA DE MÉXICO: LA IMPORTANCIA DE CONTAR CON INVENTARIOS NACIONALES PRECISOS Y DE ESTRATEGIAS VIABLES DE MITIGACIÓN

Artículo publicado: Vázquez-Carrillo, M.F.; Ku-Vera, J.C.; González-Ronquillo, M.; Castillo-Gallegos, E.; Kebreab, E.; Castelán-Ortega, O.A. 2020. Emisiones de metano por fermentación entérica de la ganadería bovina de México: la importancia de contar con inventarios nacionales precisos y de estrategias viables de mitigación. Elementos para Políticas Públicas 4(1):13-28

EMISIONES DE METANO POR FERMENTACIÓN ENTÉRICA DE LA GANADERÍA BOVINA DE MÉXICO: LA IMPORTANCIA DE CONTAR CON INVENTARIOS NACIONALES PRECISOS Y DE ESTRATEGIAS VIABLES DE MITIGACIÓN

METHANE EMISSIONS FROM ENTERIC FERMENTATION OF MEXICAN CATTLE: THE IMPORTANCE OF ACCURATE NATIONAL INVENTORIES AND VIABLE MITIGATION STRATEGIES

María Fernanda Vázquez-Carrillo¹, Juan Carlos Ku-Vera², Manuel González-Ronquillo³, Epigmenio Castillo-Gallegos¹, Ermias Kebreab⁴, Octavio Alonso Castelán-Ortega^{3†}.

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 3000, Ciudad Universitaria, Coyoacán, CP 04510, Ciudad de México

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, carretera Mérida-Xmatkuil km 15.5, Mérida, Yucatán, México

³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del estado de México. Instituto Literario 100, Colonia Centro, Toluca, CP 50000, Estado de México

⁴Department of Animal Science, University of California, Davis, CA 95616, USA.

[†]Autor para correspondencia: oacastelano@uaemex.mx

RESUMEN

El sector ganadero contribuye al calentamiento global con el 18% de la emisión antropogénica total de gases de efecto invernadero (GEI), estas emisiones tienen su origen en la producción y procesamiento de alimento para el ganado, el uso de tierra, la fermentación entérica y el manejo de desechos de los animales. Gracias a su eficiente sistema digestivo los rumiantes pueden aprovechar una gran diversidad de plantas forrajeras y transformarlas en alimentos de alto valor biológico para la humanidad, no obstante, como resultado de este proceso se pierde parte de la energía consumida por el animal en forma de gas metano (CH₄). Para el año 2018, México contaba con un inventario de casi 32 millones de cabezas de ganado bovino (la más numerosa después de las aves de corral), el cual generaba alrededor de 2039.21 ± 205.5 Gg de CH₄ al año, ocupando el octavo lugar entre los países productores de metano por fermentación entérica a nivel mundial. Por lo tanto, es importante, por un lado conocer, e identificar los factores que intervienen en la emisión de CH₄ por fermentación entérica de los bovinos en México, para mejorar la eficiencia de utilización de la energía de los alimentos por los animales y reducir las pérdidas a través del CH₄. Y, por otro lado, desarrollar métodos y procedimientos robustos para la generación de inventarios de éste gas, con el objetivo de desarrollar estrategias y políticas nacionales para la mitigación de emisiones de metano por fermentación entérica del ganado bovino en México, tales como la inclusión de plantas taníferas en la alimentación animal, y así diseñar e implementar políticas públicas adecuadas al contexto ganadero del país.

Palabras Clave: alimentación; GEI; GHG; metano; rumiantes.

ABSTRACT

The livestock sector contributes to global warming with ~18% of the total anthropogenic emission of greenhouse gases (GHG), these emissions have their origin in the production and processing of feed for livestock, land-use change, enteric fermentation and animal waste management. The efficient digestive system of ruminants can take advantage of a great diversity of forage plants and transform them into foods of high biological value for humanity. However, as a result of this process, part of the energy consumed by the animal is lost in the form of methane gas (CH₄), a potent green house gas. For 2018, Mexico had an inventory of almost 32 million head of cattle (the most numerous livestock species after poultry), which generated around $2,039.21 \pm 205.5$ Gg of CH₄ per year, ranking eighth among methane-producing countries by enteric fermentation worldwide. Therefore, it is crucial to know and identify the factors that intervene in the emission of CH₄ by enteric fermentation of cattle in Mexico in order to improve the efficiency of the use of energy from food by animals and reduce the losses through CH₄. On the other hand, it is necessary to develop robust methods and procedures for the calculations of inventories of this gas, aimed at developing national strategies and policies for the mitigation of methane emissions originated from enteric fermentation of cattle in Mexico. These strategies can include the inclusion of tanniferous plants as a supplement to cattle's feed, and thus design and implement appropriate public policies for the country's livestock context.

Index words: feed; GEI; GHG; methane; ruminants.

INTRODUCCIÓN

Debido al aumento progresivo de la población mundial y la demanda de proteínas de origen animal para consumo humano, existe una elevada preocupación por el papel que desempeñan los rumiantes domésticos en el calentamiento global, principalmente por la producción de gases de efecto invernadero (GEI), pues en forma directa contribuyen con la emisión de metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂) a partir de la fermentación ruminal y de óxido nitroso (N₂O) por la degradación de sus heces y orina en el ambiente (Eckard *et al.*, 2010; FAO, 2018); y en forma indirecta a través de las actividades que involucran la producción de forrajes y la conversión de bosques en pasturas para su alimentación. De acuerdo con Steinfeld *et al.* (2006) el sector ganadero emite 7.1 Gt de CO₂ eq aproximadamente, es decir, alrededor del 18% de la emisión antropogénica global de GEI. Entre los GEI que emite el ganado, el metano juega un papel muy importante ya que lo producen en grandes volúmenes, y es 28 veces más potente que el CO₂ para contribuir al efecto invernadero. Por otro lado, el metano, tiene una vida media de 9 a 15 años en la atmósfera (Eckard *et al.*, 2010), periodo relativamente corto en comparación

con otros GEI. En este contexto, los resultados de las acciones y políticas de mitigación del cambio climático, en particular para la reducción de la emisión de metano por fermentación entérica del ganado bovino, se apreciarían en el corto-mediano plazo en comparación con otros GEI en donde se tendría que esperar decenas sino cientos de años antes de observar un efecto.

En la actualidad, la mayoría de los estudios en ganadería y cambio climático en América Latina están enfocados en la cuantificación de los volúmenes de la emisión de CH₄, la determinación de los factores de emisión y el cálculo de los inventarios nacionales; pocos estudios se enfocan en el desarrollo de estrategias de mitigación (Benaouda *et al.*, 2017). Para el año 2017, México se encontró dentro de los 10 países con mayor producción de GEI, con una contribución equivalente al 1.68% de las emisiones globales (WRI, 2017) (Figura 1). Recientemente, se publicó el Primer Inventario Nacional Tier 2 de emisiones de metano por fermentación entérica del ganado bovino de México, registrando 2039.21 ± 205.5 Gg de CH₄ al año (Castelán-Ortega *et al.*, 2019), para una población aproximada de 31.8 millones de cabezas, registradas por el Padrón Ganadero Nacional (2016).

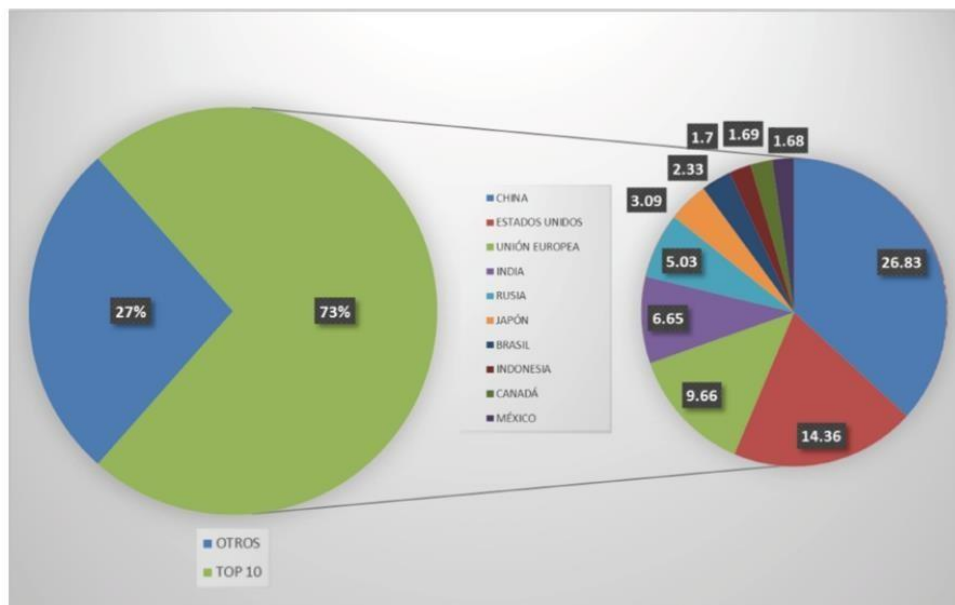


Figura 1. Principales países generadores de gases de efecto invernadero. Modificado de WRI, 2017.

Existen diferentes técnicas para cuantificar las emisiones de metano por los bovinos (es la especie doméstica que más metano emite), como son analizadores portátiles, el método trazador de gases como SF₆ (Hexafluoruro de Azufre) (Johnson *et al.*, 1994), sistema de túnel de polietileno, GreenFeed, cámaras de respiración, entre otros (Cersosimo y Wright, 2015); la técnica que emplea cámaras de respiración es considerada la de mayor precisión, ya que se mide todo el metano producido por el animal. Hasta hace poco, México carecía de información precisa sobre emisiones de metano entérico por bovinos debido a la falta de laboratorios especializados donde se pudieran llevar a cabo mediciones *in vivo*. Desde el año 2014 se cuenta en el país con dos laboratorios con la infraestructura para medir *in vivo* las emisiones de metano en bovinos alojados en cámaras de respiración de circuito abierto; ubicados estratégicamente en dos importantes regiones geo-climáticas de México, el primero localizado en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY), el cual estudia las emisiones de CH₄ de las regiones de clima tropical del sur, Golfo de México y las regiones de clima tropical de la Costa del Pacífico; mientras que el segundo ubicado en la FMVZ de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMex), en el

Estado de México, estudia los sistemas ganaderos de las regiones de clima templado, árido y semi-árido de México (Castelán-Ortega *et al.*, 2019). Recientemente se ha implementado un Laboratorio de Cromatografía de Gases para medir emisiones de metano entérico y óxido nítrico en sistemas ganaderos en pastoreo, usando la técnica de SF₆, el cual se encuentra en el El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR) en el Estado de Chiapas, México.

La producción de metano entérico se encuentra influenciada por diversos factores, principalmente por la composición química y calidad de la dieta, así como el nivel de consumo del animal (Johnson y Johnson, 1995; Hook *et al.*, 2010). El metano es un producto resultado de la fermentación de los carbohidratos del alimento ingerido, durante ésta fermentación, las bacterias arqueas metanogénicas presentes en el rumen, utilizan como sustrato el CO₂ y el H₂ para formar CH₄ y así reducir la acumulación de H₂ en el rumen evitando problemas digestivos y metabólicos en el animal (Benaouda *et al.*, 2017); la producción de metano implica una pérdida energética para el animal, que puede llegar a representar hasta el 12% de la energía bruta (EB) total consumida en el alimento (Johnson y Johnson, 1995). El patrón de fermentación ruminal depende principalmente del

tipo de carbohidratos contenidos en la dieta animal, por ejemplo, los carbohidratos estructurales de los forrajes (celulosa, hemi-celulosa y lignina) agrupados en la porción conocida como fibra detergente neutro (FDN) dirigen la fermentación ruminal hacia una de tipo acética, donde se liberan ocho iones de hidrógeno por cada mol de acetato producido, mientras que una fermentación de tipo propiónica, dada por una dieta alta en alimentos concentrados, no libera moléculas de hidrógeno y por lo tanto no promueve la formación de metano (Johnson y Johnson, 1995; Moss y Givens, 2002). De esta manera, modificar la inclusión de diferentes tipos de carbohidratos en la dieta puede definir el tipo de fermentación y por ende la cantidad de metano producido por fermentación entérica. Es por lo anterior, que algunas de las estrategias de mitigación de metano producido por fermentación entérica más prometedoras se basan precisamente en modificar la composición de la dieta y se encuentran asociadas al uso de recursos alimenticios locales y de bajo costo, los cuales puedan producir una fermentación de tipo propiónica. Existen también otras estrategias que favorecen una menor producción de metano, las cuales se basan en diferentes niveles de inclusión de plantas taníferas y saponíferas en la dieta de los rumiantes como se describe ampliamente en Ku-Vera *et al.* (2020) y Vázquez-Carrillo *et al.* (2020), las cuales han mostrado resultados prometedores y de aplicabilidad para México, ya que fueron desarrolladas en el país.

El presente documento tiene como objetivos el presentar una síntesis del estado actual de las investigaciones sobre emisiones de metano por fermentación entérica de los bóvidos en México; y presentar algunas estrategias y políticas públicas sugeridas para la mitigación de las emisiones de metano por fermentación entérica del ganado bovino, pensadas para el contexto ganadero del país.

DESARROLLO DEL PRIMER INVENTARIO NACIONAL NIVEL TIER 2 DEL IPCC DE EMISIONES DE METANO POR FERMENTACIÓN ENTÉRICA, EMPLEANDO MEDICIONES *in vivo* EN MÉXICO

En México, hasta hace poco, no se habían realizado mediciones *in vivo* de las emisiones de metano por fermentación entérica en ganado bovino, y por ende existía poca información sobre este tema. Además, no se contaba con estudios de emisiones de metano por

regiones geo-climáticas del país, lo cual generaba una sub o sobreestimación de emisiones de metano por fermentación entérica por la variación que existe en la composición y calidad de los forrajes y dietas entre regiones geo-climáticas, siendo menor la calidad en los forrajes de clima tropical respecto a los de clima templado (Castelán-Ortega *et al.*, 2014). Se sabe que los primeros generan una menor emisión mientras que los segundos presentan una mayor emisión de metano (Castelán-Ortega *et al.*, 2014).

Los estudios generados por el presente grupo de trabajo permitieron publicar en el año 2019 el primer inventario nacional, con factores de emisión de metano específicos para el ganado bovino de México (Castelán-Ortega *et al.*, 2019), el cual se llevó a cabo utilizando una metodología más completa que la usada hasta el momento por el gobierno mexicano, el nivel 2 (Tier 2, por sus siglas en inglés) del Panel Intergubernamental para el Cambio Climático (IPCC, por sus siglas en inglés). Antes de nuestro inventario de nivel Tier 2, los inventarios en México se calculaban con base en factores de emisión por defecto recomendados en las directrices del IPCC (2006), en su forma más simple que es el nivel Tier 1, que consiste en multiplicar el número de cabezas de ganado por un factor de emisión por defecto, sin considerar los factores que influyen en el volumen de las emisiones, como la función productiva del ganado (leche, carne, doble propósito), el sistema de producción, el consumo de materia seca (CMS), y sobre todo, el tipo y la calidad de la dieta, el clima y la eficiencia productiva (IPCC, 2006; Sejian *et al.*, 2011), en resumen no se consideraba el efecto de la región geo-climática sobre la emisión de metano entérico. Es por lo anterior, que los resultados derivados de modelos como el Tier 1 son cuestionables debido a su baja precisión y elevada incertidumbre. Sin embargo, la implementación de un inventario de nivel 2, es complejo, debido a la falta infraestructura y financiamiento para el desarrollo de estudios más rigurosos como lo plantea Sejian *et al.* (2011), así como la necesidad de mantener animales en experimentación y en condiciones ambientales específicas (Marques *et al.*, 2020). México al ser un país con una gran diversidad climática, posee diferentes sistemas de producción de bovinos, tipos de alimentación, ganado con diferente fin zootécnico, razas, entre otros; por lo anterior el hacer uso del nivel Tier 1 del IPCC (2006) sin duda sub-estima o sobre-estima las emisiones de metano en los inventarios regionales y/o nacionales.

Procedimiento para el desarrollo del inventario Tier 2

El desarrollo del inventario, publicado por Castelán-Ortega *et al.* (2019), consistió en la recopilación de información bibliográfica y estadística sobre las características de los sistemas de producción de ganado bovino, su población y estructura del hato en México, para ello se utilizó como base el Padrón

Ganadero Nacional (2016) y su clasificación para dicho fin, de igual forma se colectó información sobre la alimentación de los bovinos y composición química de forrajes y alimentos. Después, se dividió el territorio nacional en regiones geo-climáticas y se ubicó la población nacional de ganado bovino correspondiente a cada región, obteniéndose cinco regiones: cálido húmedo, cálido sub-húmedo, templado, seco y muy seco como se muestra en la Figura 2.

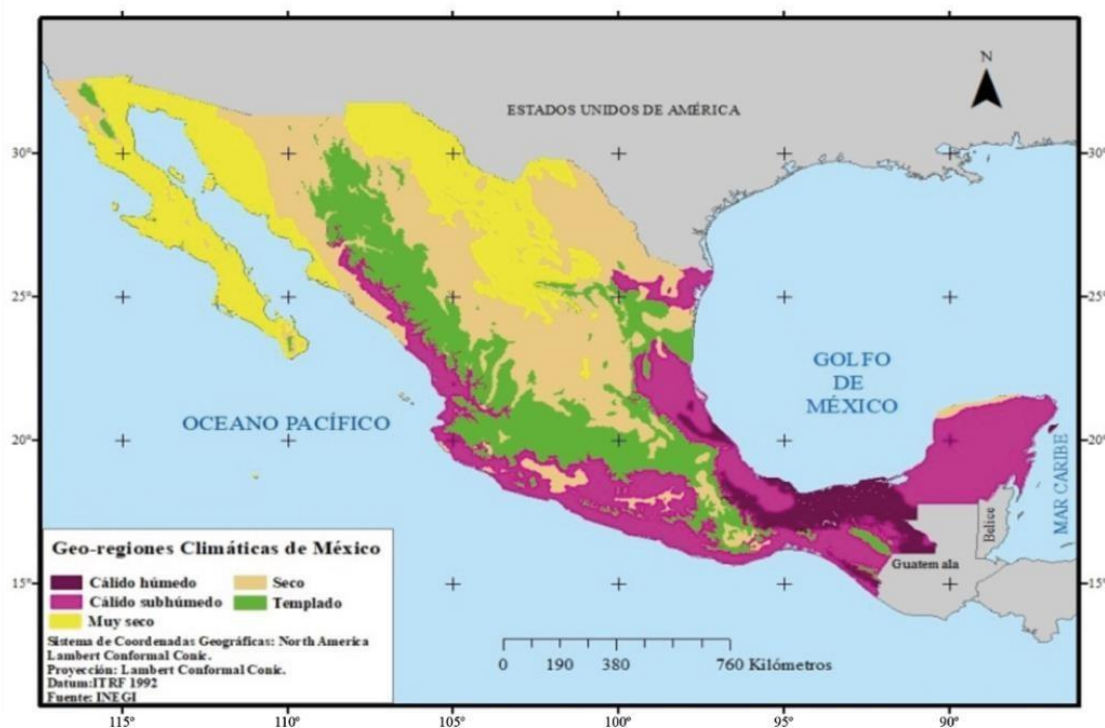


Figura 2. Regiones geo-climáticas de la República Mexicana empleadas en la elaboración del inventario de nivel Tier 2 de emisiones de metano por fermentación entérica del ganado bovino. Tomado de: Castelán-Ortega *et al.* (2019).

Posteriormente, se realizaron encuestas en 15 estados representativos de cada región geo-climática de la república y con una población importante de ganado; también se empleó el método de observación directa y se recolectaron muestras de forrajes y dietas empleadas en las unidades de producción pecuaria, a éstas últimas se les determinó la concentración de energía bruta,

dato indispensable para el cálculo de los factores de emisión de metano de acuerdo con el método Tier 2 del IPCC (2006). En la Figura 3 se representan diferentes sistemas de producción, que ejemplifican algunos de los sistemas de México, con distintas razas de bovinos y tipos de alimentación.



Figura 3. Diferentes sistemas de producción y alimentación del ganado bovino en México. (a) Pastoreo en las regiones de clima cálido sub-húmedo, (b) Engorda intensiva en corrales en la región de clima muy seco y (c) Producción intensiva de leche en la región de clima seco.

Mediante un análisis estadístico multivariado de las encuestas aplicadas, se identificaron los principales ingredientes empleados en la alimentación, y posteriormente, se definieron las dietas tipo para cada región geo-climática y categoría de ganado. Las dietas tipo se reprodujeron y ofertaron a bovinos experimentales y sus emisiones de metano fueron medidas en las cámaras de respiración de circuito abierto (Figura 4), de los laboratorios de la UAEMex y la UADY; es decir una dieta tipo para cada región climática y categoría de ganado. Las cámaras de respiración están equipadas con aire acondicionado, luz artificial, ventilador y una jaula metabólica; ésta última provista de comedero, bebedero, piso antiderrapante y un contenedor en la parte inferior posterior, que permitió la colecta total de heces del animal como se describe en Canul *et al.* (2017); esta infraestructura fue necesaria para el cálculo de consumo de materia seca (CMS) y digestibilidad de la dieta, además de la emisión de metano. Los animales tuvieron un periodo de adaptación a las dietas tipo, para posteriormente seguir con un periodo de muestreo, en el cual se realizaron mediciones de consumo, digestibilidad de la

dieta y de la energía; finalizando con 24 hr de medición dentro de las cámaras de respiración para cuantificar la emisión de metano de los animales.

Una vez medida la emisión de metano se procedió a calcular el factor de partición de la energía consumida hacia metano conocido como factor Y_m (Y_m , por sus siglas en inglés). Este factor Y_m determina el porcentaje de energía consumida que se pierde en forma de metano. Los factores de emisión para las regiones de clima templado, seco y muy seco se generaron a partir de experimentos en bovinos de las razas Holstein y Charoláis realizados en el Laboratorio de Ganadería, Medio Ambiente y Energías Renovables de la FMVZ-UAEMex (Castelán-Ortega *et al.*, 2015; Hernández-Pineda *et al.*, 2018; Castelán-Ortega *et al.*, 2018; Castelán-Ortega *et al.*, 2020). Mientras que los factores de emisión para las regiones de clima cálido húmedo y cálido sub-húmedo se determinaron a través de experimentos *ex profeso* con ganado cebú en el Laboratorio de Cambio Climático y Ganadería de la FMVZ-UADY (Canul *et al.*, 2017; Ku-Vera *et al.*, 2018; Arceo-Castillo *et al.*, 2019).



Figura 4. Equipo de medición de emisiones de metano y cámaras de respiración de circuito abierto de la FMVZ-UAEMex.

Finalmente, con los datos obtenidos: factor Y_m , digestibilidad y variables sobre las características productivas del animal, se calculó el inventario de emisiones de metano por región geo-climática, función productiva y categoría del ganado, acorde al modelo del Tier 2 (IPCC, 2006), utilizando como base el censo del Padrón Ganadero Nacional al año 2016. También, se determinó la magnitud de la incertidumbre asociada al modelo (Valenzuela *et al.*, 2017), y la propagación de la incertidumbre por el método de simulación

matemática Monte Carlo. El inventario de metano por fermentación entérica Tier 2 obtenido de esta forma fue de 2039.21 Gg año⁻¹ y su incertidumbre asociada fue de -18.2 a 21.2 como se muestra en el Cuadro 1. La incertidumbre del inventario es muy similar a la reportada por otros países (Karimi-Zindashty *et al.*, 2012; Milne *et al.*, 2014; Hristov *et al.*, 2017). Para una descripción detallada del proceso de elaboración del inventario se sugiere consultar el documento publicado en Castelán-Ortega *et al.* (2019).

Cuadro 1. Inventario de emisiones de metano por fermentación entérica de bovinos en México para el año 2018 y su incertidumbre asociada.

	FD	γ	δ	λ	ξ	X	σ	I. C. 95%	(%)
CH ₄ total (Gg año ⁻¹)	Johnson SU	1037	1007.35	-6.06	6.97	2039.21	205.50	1666.36- 2471.61	-18.28 a +21.20

FD = Función Distribución de Probabilidad. γ = Gama. δ = parámetros. λ = Lambda. X = media σ = desviación estándar. I.C. = Intervalo de confianza.

El inventario nacional expuesto anteriormente, es el reflejo del esfuerzo de investigación, metodologías planeadas y experimentos en cámaras de respiración de circuito abierto, así como el uso de métodos estadísticos robustos y confiables para el análisis correcto de información; tratándose del primer estudio en su tipo para México.

Consideraciones con respecto al inventario de aproximación Tier 2

Investigaciones como la que se describe en el presente documento son necesarias para la obtención de resultados más precisos acorde al contexto ganadero regional y nacional del país. Entre más información de calidad se obtenga del sector ganadero nacional, respecto a las variantes involucradas en la producción de GEI, se pueden reemplazar las aproximaciones cualitativas por cuantitativas y refinar los valores de los diferentes parámetros implicados en el modelo, para aumentar la precisión y reducir la incertidumbre de los inventarios. Siguiendo esta corriente de pensamiento, es necesaria la actualización del inventario nacional, para sentar las condiciones a las que se enfrenta el país en este campo, con la finalidad de desarrollar y mejorar políticas gubernamentales enfocadas a la mitigación de GEI. Por otro lado, es necesario tomar en cuenta las consideraciones señaladas por Marques *et al.* (2020), para regiones que no cuentan con cámaras de respiración; quienes enfatizan la necesidad de la implementación de modelos mecanísticos, los cuales disminuyen la necesidad de mantener animales en experimentación intensiva, y en condiciones

ambientales específicas. Estos modelos estiman las emisiones de GEI basándose en procesos metabólicos, pero tienen que ser desarrollados, calibrados y validados usando información generada en México y relevante para el contexto ganadero nacional.

LA NECESIDAD DE CONTAR CON INVENTARIOS NACIONALES DE GEI PRECISOS PARA EL SECTOR AGROPECUARIO DE MÉXICO

El cambio climático influye sobre el aumento en la frecuencia de fenómenos climáticos extremos en México afectando a familias rurales, principalmente. La estela de destrucción e inundaciones dejada por la tormenta tropical “Cristóbal” tras su paso en junio de 2020 por el sur de México, es un signo tangible del impacto del cambio climático sobre la ganadería en México (Figura 5). Potreros inundados, ganado en el agua y forrajes perdidos, son muestra evidente de que la alteración de los ciclos de la naturaleza por la actividad antropogénica, tiene consecuencias graves sobre el bienestar económico de miles de personas en el sector rural. Por tales razones, es indispensable que el país cuente con inventarios precisos de emisiones de gases de efecto invernadero y estrategias eficientes de mitigación y adaptación al cambio climático. El Plan Nacional de Desarrollo 2018-2024 no contiene un instrumento de política pública para tal efecto, por lo que es necesario diseñarla y ponerla en operación, so pena de pagar el precio social y conómico de no haber tomado las medidas suficientes para mitigar los efectos del cambio climático.



Figura 5. Potreros inundados y vacas en el agua en Tizimín, Yucatán (impacto de la tormenta tropical Cristóbal en junio de 2020 en el sur de México).

Para obtener una mejor respuesta de los ganaderos hacia las estrategias de mitigación, es recomendable que estas se combinen con acciones de adaptación, dada la experiencia previa del productor. Folke (2006) subraya la importancia del aprendizaje social e institucional,

los cuales surgen como respuesta a crisis anteriores. De esta forma, las crisis son el momento clave para crear oportunidades dirigidas a la autoorganización, incluido el fortalecimiento de las instituciones locales y la construcción de vínculos entre escalas y redes

de resolución de problemas (Berkes, 2007). En este sentido el IPCC (2007), menciona que la capacidad de adaptación es dinámica y se ve influenciada por la sociedad y la experiencia previa, así como por el capital humano y las instituciones, la gobernanza, los ingresos nacionales, la salud y la tecnología; influyen también en ella una multiplicidad de factores de estrés climáticos y no climáticos, así como las políticas de desarrollo de los gobiernos. Desde este enfoque, los cambios no se pueden realizar de forma aislada de factores físicos y sociales, ya que se encuentran interrelacionados. Los sistemas sociales dependen en gran medida de las variables biofísicas y éstas, a su vez, de las actividades humanas. Estos sistemas (ambientales y sociales) han evolucionado en conjunto, por lo cual se necesita un análisis profundo de su interacción, para mejorar la capacidad de pronosticar y responder al cambio (Folke, 2006). Por lo anterior, es importante reforzar la innovación después de sucesos clave para estimular el aprendizaje de cómo afrontarlo, fortaleciendo la capacidad de respuesta ante el cambio; un ejemplo muy claro de ello es toda innovación e investigación que se está llevando a cabo para resolver la crisis humanitaria desatada por el virus SARS-CoV-2.

En México, se han realizado estudios acerca de la adopción de nuevas tecnologías, la respuesta de los ganaderos y cómo influye la experiencia obtenida por éstos para integrarla a sus unidades de producción pecuaria (UPP), como ejemplo, Zepeda-Cancino *et al.* (2016) realizaron un estudio sobre la adopción de sistemas silvopastoriles intensivos (SSPi) en Chiapas, y encontraron que factores sociodemográficos, socioculturales, personales y de apoyos gubernamentales y académicos, influyen en la alta o baja adopción de nuevas tecnologías. Dentro de estos destacaron la edad (adultos mayores), grado de escolaridad (primaria), nivel de ingresos económicos (bajo), alto intermediarismo en la venta de los animales, la baja frecuencia con la que reciben apoyos gubernamentales y el conocimiento limitado, como factores que obstaculizan la adopción de SSPi. Lo anterior concuerda con lo mencionado por el IPCC (2007) y Clavero *et al.* (2006) en el sentido de que las limitaciones económicas, tecnológicas, cognitivas, políticas, institucionales y socio-culturales restringen tanto la aplicabilidad como la efectividad de las medidas de adaptación. Por otro lado, Villanueva *et al.* (2009) enfatizan la importancia del conocimiento local o adquirido de los ganaderos, con el cual reconocen la importancia económica, social y ambiental de los

sistemas silvopastoriles. Lo anterior demuestra que la educación e información es pieza clave para la adopción y el establecimiento de estrategias de mitigación. Resalta la importancia de la implementación de asesorías, talleres y cursos, para informar y capacitar al ganadero/productor, acerca del calentamiento global, el papel de la ganadería y el impacto que genera en el sistema socioambiental, las consecuencias a corto, mediano y largo plazo, para resaltar la importancia de su estudio, investigación, y el establecimiento de acciones de adaptación y estrategias de mitigación. Fomentar el aprendizaje y la colaboración entre las comunidades y las instituciones gubernamentales y académicas, para examinar los patrones de respuesta a las amenazas, permitiría conocer qué opciones de políticas son prometedoras (Folke, 2006). Un conocimiento limitado frena el proceso de adopción y el desarrollo de nuevas tecnologías, por lo tanto es una de las principales barreras para la adopción de las mismas (Clavero *et al.*, 2006; Zepeda-Cancino *et al.*, 2016).

Asimismo, el otorgar presupuestos suficientes, accesibles y estables, no temporales; incentivos económicos como pagos por servicios ambientales y de asistencia técnica para potencializar la adopción de nuevas tecnologías, política pública permanente dirigida a resolver los problemas de la cadena productiva, incrementaría la adopción y desarrollo de estrategias de mitigación (Aguirre-Ortega *et al.*, 2015).

HACIA UN CAMINO PARA EL DESARROLLO DE ESTRATEGIAS DE MITIGACIÓN DE LAS EMISIONES DE METANO POR FERMENTACIÓN ENTÉRICA DE BOVINOS EN MÉXICO

En México no existe una política pública para mitigar las emisiones de metano por fermentación entérica provenientes de la ganadería bovina. El principal programa de impulso ganadero actual: “Crédito Ganadero a la Palabra”, no contempla medidas de adaptación o de mitigación ante los impactos del cambio climático en el sub-sector ganadero nacional (Presidencia de la República; Plan Nacional de Desarrollo 2019-2024). En este sentido, se necesita el apoyo y financiamiento de las autoridades del sector agropecuario hacia la investigación, así como la cooperación y el entendimiento de la problemática por parte de los ganaderos, para la actualización y mejoramiento de los inventarios nacionales, el desarrollo de estrategias de mitigación de metano de

forma sustentable, todo lo cual redunde en la producción de proteína de origen animal de alto valor biológico, de buena calidad y con el menor impacto posible sobre el medio ambiente.

La FAO (2018), propone tres formas para reducir sustancialmente las emisiones de GEI de la producción ganadera: 1) realizando mejoras de la productividad animal para reducir las intensidades de emisiones, es decir menos metano por kilogramo de leche o carne; 2) la captura de carbono a través de un manejo mejorado de los pastos; y 3) una mejor integración ganadera en la bio-economía circular; como el uso de subproductos de la agroindustria en la alimentación animal, el aumento de la productividad de los cultivos a través del uso del estiércol como fertilizante y la tracción animal, así como el uso de biodigestores para el tratamiento de excretas.

En México, en los últimos años se han dado importantes avances en la búsqueda de estrategias de mitigación de GEI en diversos sistemas ganaderos de diferentes zonas agroecológicas. Por ejemplo, ha tomado relevancia la utilización de recursos arbóreos locales para reducir la emisión de metano en diversas especies de rumiantes. Por ejemplo, la inclusión en la dieta animal del follaje de diversos árboles y arbustos con alto contenido de taninos como *Cosmos bipinnatus*, Cav., han mostrado su potencial para reducir las emisiones de CH_4 entérico. Hernández-Pineda *et al.* (2018) encontraron que con la adición de 0.5 kg de materia seca (MS) al día de *C. bipinnatus* se redujeron hasta en un 16% las emisiones de metano en vacas lecheras sin afectar el consumo de alimento ni la productividad animal; de igual forma, Apodaca-Martínez y Estrada-Montero (2018) en un estudio realizado con tres niveles de inclusión de *C. bipinnatus* (0, 5 y 10% del consumo de MS) en una dieta 50:50 forraje:concentrado, obtuvieron la mejor respuesta con el 5% de inclusión de la planta con respecto a la dieta control, lo que resultó en una disminución de 24% en el rendimiento de CH_4 en L kg^{-1} de materia seca ingerida (MSI) en becerros Holstein. Así mismo, Vázquez-Carrillo *et al.* (2020) encontraron que la inclusión de 365 g MS día⁻¹ de *C. bipinnatus* o 100 g MS día⁻¹ de *Cymbopogon citratus* en dietas con proporción de 20:80 forraje:concentrado redujeron el rendimiento de CH_4 en g kg^{-1} MSI en bovinos F1 productores de carne en un 27.6 y 32.5% respectivamente. Por otro lado, Benaouda (2018) evaluó el efecto de cuatro niveles crecientes de fibra de baja digestibilidad (FDN) en vacas lecheras y encontró que con el aumento de FDN el

rendimiento de metano disminuyó gradualmente (32.1, 28.1, 23.1 y 21.2 $\text{CH}_4 \text{L kg}^{-1}$ MSI, respectivamente), en dicho estudio se concluye que a mayor concentración de FDN en la dieta de vacas lecheras, es menor la digestibilidad de la MS y de la fibra, lo cual resulta en menor sustrato digestible en el rumen, lo que conlleva a una reducción en la emisión de metano, ya que disminuye el sustrato para la formación de CH_4 al haber una menor degradación de la fibra. En las regiones geoclimáticas tropicales del sureste de México, Piñeiro-Vázquez *et al.* (2017), en un estudio con niveles crecientes de *Leucaena leucocephala* (0, 20, 40, 60 y 80%) en una dieta a base de *Pennisetum purpureum*, encontraron que tanto la producción diaria de metano como el rendimiento en g kg^{-1} MSI disminuyó desde un 29.5 hasta 63% en esta última variable con respecto a su dieta control; esta leguminosa tropical originaria de México ha mostrado ser eficaz en la reducción de las emisiones de metano por los rumiantes en regiones tropicales, y además incrementa la captura de carbono por el agroecosistema (Ku-Vera *et al.*, 2018).

El diseño de acciones y políticas para la mitigación de GEI y la adaptación de la ganadería al cambio climático debe contemplar varios aspectos, a fin de favorecer el desarrollo de sistemas de producción sostenibles. Los resultados anteriores evidencian el potencial de la inclusión de plantas taníferas, así como el uso de los sistemas silvopastoriles (Palmer, 2014) para contribuir hacia el desarrollo de una ganadería más amigable con el medio ambiente.

La implementación de las estrategias, descritas arriba, para mitigar las emisiones de metano por el ganado bovino, tienen que ser gestionadas de forma integral, con el fin de visualizar su escalamiento a nivel regional y posteriormente a nivel nacional. En las regiones tropicales, con sistemas extensivos, se pueden aprovechar gran cantidad de plantas forrajeras; para lograr una mejor calidad y digestibilidad de la dieta, lo cual se reflejaría en una mayor productividad animal y, por lo tanto, en una reducción en la intensidad de las emisiones de metano por fermentación entérica. Para ello, parte de la superficie ocupada para el pastoreo se puede dedicar a la implementación de bancos de leguminosas nativas, haciendo énfasis en sistemas agroforestales y/o agroecológicos (FAO, 2019).

La inclusión de follaje de plantas taníferas en la dieta, puede ser utilizado en un amplio abanico de sistemas ganaderos del país, de tal forma que se puede asegurar el consumo de la planta por los animales y tener beneficios productivos y ambientales. Para esto,

es necesario contemplar diversos factores, que permitan asegurar la distribución y manejo de la planta en las UPP y así, obtener una respuesta animal favorable, en términos productivos, pero también ambientales. Inicialmente, se deberá de contar con superficies con las condiciones adecuadas de temperatura, humedad, riego, entre otros factores, que permitan el crecimiento y desarrollo de las plantas taníferas, con la finalidad de asegurar el abastecimiento a las UPP. De igual forma, el corte de la planta debe ser en una etapa fenológica adecuada y el manejo posterior a su cosecha debe de ser cuidado con el fin de evitar la pérdida de los taninos u otros metabolitos secundarios de las plantas de interés. Dentro de los factores y recomendaciones a considerar, acorde a los estudios previamente expuestos, un aspecto que destaca es el secado bajo sombra de la planta con las condiciones apropiadas de temperatura, humedad y ventilación; todo lo anterior para asegurar un porcentaje de MS adecuado y concentración de metabolitos secundarios que se mantengan viables para que lleven a cabo su efecto antimetanogénico en el rumen del animal, una vez ingerida por éste. Posteriormente, es necesario realizar un mezclado adecuado de la planta tanífera/saponífera con su dieta, que asegure de esta forma el consumo diario de la planta con propiedades antimetanogénicas. También, es importante establecer la cantidad mínima necesaria de inclusión de la planta en la dieta animal y el periodo de consumo, esto para obtener resultados favorables en los bovinos, traducidos en una reducción en el largo plazo de la emisión de metano por fermentación entérica y en la obtención de productos de alta calidad como carne y leche. Sin embargo, es importante establecer con claridad que las posibilidades de implementación de estas estrategias dependerán del financiamiento y disponibilidad de recursos como son las tierras para la siembra de las plantas en cuestión; también de la capacitación técnica de los productores y disponibilidad de maquinaria para preparar las plantas con las características adecuadas, mediante el secado, el molido y la mezcla de las plantas taníferas con la dieta. La distribución de la plantas a nivel regional y nacional se plantea también como un reto importante.

CONCLUSIONES

Lo anteriormente expuesto demuestra que existen soluciones que se pueden llegar a adaptar al contexto regional y nacional, de tal forma que puedan ser aplicadas en las UPP. Sin embargo, se requieren

implementar a nivel nacional, principalmente en las grandes explotaciones pecuarias, haciendo visible la necesidad del trabajo interdisciplinario, para contemplar los diferentes escenarios que se puedan presentar en el desarrollo y la implementación de las acciones de adaptación y estrategias de mitigación de la emisión de GEI en el país.

Finalmente, para que las acciones de adaptación y mitigación se lleven a cabo es necesario, en principio, que las políticas nacionales respalden su necesidad. Por ello, se considera importante se contemplen en los planes y programas nacionales y a la par se les asigne el financiamiento enfocado a investigaciones que conlleven a la generación de información respecto a el potencial antimetanogénico de plantas taníferas/saponíferas nativas de México, así como pruebas de comportamiento en bovinos, no sólo para analizar su potencial para mitigar las emisiones de metano por fermentación entérica, sino evaluar que no afecten el comportamiento productivo y la salud de los animales. Asimismo, se requiere de talleres y cursos dirigidos a los ganaderos, con la finalidad de concientizarlos en este contexto, es sustancial, la implementación conjunta de programas con financiamiento que permitan el desarrollo de éstas estrategias, de tal forma que se facilite la adopción e implementación de las medidas mencionadas. Se necesita del genuino interés y compromiso del liderazgo pecuario federal de México, para que los inventarios y estudios de metano entérico bovino obtenidos a la fecha en los laboratorios de investigación de las universidades públicas, se traduzcan por medio de políticas públicas, en acciones concretas de mitigación en las diversas unidades ganaderas de México.

LITERATURA CITADA

- Aguirre-Ortega, J., J. Bonilla-Cárdenas, F. Carrillo-Díaz, A. Herrera-Corredor, F. Escalera-Valente, M. Rivas-Jacobo y S. Martínez-González. 2015. Alternativas para ganadería ante el cambio climático en Nayarit. *Abanico Veterinario* 5:28-37.
- Arceo-Castillo, J., M. Montoya-Flores, L. T. Molina, A. Piñero-Vázquez, C. Aguilar-Pérez, A. J. Ayala-Burgos, F. J. Sánchez, O. A. Castelán-Ortega, P. Quintana-Owen and J. Ku-Vera. 2019. Effect of the volume of methane released into respiration chambers on full system methane recovery. *Animal Feed Science and Technology* 249:54-61.
- Apodaca-Martínez, G. y B. P. Estrada-Montero. 2018. Efecto de *Cosmos bipinnatus* (planta tanífera) sobre la producción de metano ruminal en becerros de raza Holstein. Tesis de Li-

- cenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. México. 34 p.
- Benaouda, M., M. González, L. T. Molina y O. A. Castelán. 2017. Estado de la investigación sobre emisiones de metano entérico y estrategias de mitigación en América Latina. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 8:965-974.
- Benaouda, M. 2018. 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 de Doctorado. Universidad Autónoma del Estado de México. México. 95 p.
- Berkes, F. 2007. Understanding uncertainty and reducing vulnerability: lessons from resilience thinking. *Natural Hazards* 41:283-295.
- Canul, S. C. J., A. T. Piñeiro, J. I. Arceo, J. A. Alayón, A. J. Ayala, C. F. Aguilar, F. J. Solorio, O. A. Castelán, M. Lachica, P. Quintana and J. C. Ku V. 2017. Design and construction of low-cost respiration chambers for ruminal methane measurements in ruminants. *Revista Mexicana Ciencias Pecuarias* 8:185-191.
- Castelán-Ortega, O. A., J. C. Ku-Vera, L. T. Molina, P. E. Pedraza-Beltrán, J. Cantúl-Solis, A. Piñeiro-Vázquez, G. Hernández-Pineda and M. Benaouda. 2015. First in vivo Measurements of Methane Emissions from Ruminant Livestock Enteric Fermentation in Mexico Using Respiration Chambers. *Proceedings of the American Geophysical Union, San Francisco California*. <https://agu.confex.com/agu/fin15/webprogram/Paper80839.html>
- Castelán-Ortega, O. A., J. C. Ku-Vera y J. Estrada-Flores. 2014. Modeling methane emissions and methane inventories for cattle production systems in Mexico. *Atmósfera* 27:185-191.
- Castelán-Ortega, O. A., J. C. Ku-Vera, S. V. Castelán-Jaime, G. S. Hernández-Pineda, M. Benaouda, J. C. Ángeles-Hernández, A. R. Praga-Ayala and H. Montelongo-Pérez. 2018. Inventory of enteric methane emissions by cattle in the dry-land regions of México using the IPCC 2006 Tier 2 main method. Herbivore nutrition supporting sustainable intensification and agro-ecological approaches. *Proceedings of the 10th International Symposium on the Nutrition of Herbivores ISNH 2018*. *Advances in Animal Biosciences* 9:739 p.
- Castelán-Ortega, O. A., J. C. Ku-Vera, J. C. Ángeles-Hernández, M. Benaouda, G. S. Hernández-Pineda, T. L. Molina, L. Ramírez-Cancino, S.V. Castelán-Jaime, A. R. Praga-Ayala, F. Lazos-Balbuena, H. Montelongo-Pérez, M. González-Ronquillo, M. F. Vázquez-Carrillo, E. Cardoso-Gutiérrez, E. Aranda-Aguirre, D. Villegas-Estrada, A. P. Guadarrama-López y G. Apodaca-Martínez. 2019. Ganadería. Capítulo 22. pp. 492-528. En: Paz-Pellat, F., J. M. Hernández-Ayón, R. Sosa-Ávalos y A. S. Velázquez-Rodríguez (eds.). 2019. Estado del Ciclo del Carbono en México: Agenda Azul y Verde. Programa Mexicano del Carbono. Texcoco, Estado de México, México. ISBN: 978-607-96490-7-4.
- Castelán-Ortega, O. A., P. E. Pedraza-Beltrán, G. S. Hernández-Pineda, M. Benaouda, M. González-Ronquillo, L. T. Molina, H. Montelongo-Pérez and M. F. Vázquez-Carrillo. 2020. Construction and operation of a respiration chamber of the head-box type for methane measurement from cattle. *Animals Basel* 10(2):227.
- Cersosimo, L. M. and A. G. Wrigh. 2015. Estimation Methodologies for enteric methane emission in ruminants. pp. 209-220. *In: Sejian V., J. Gaughan, L. Baumgard, C. Prasad (eds.). 2015. Climate Change Impact of Livestock: Adaptation and Mitigation*. Springer, India. ISBN: 978-81-322-2264-4.
- Clavero, T. y J. Suarez. 2006. Limitaciones en la adopción de los sistemas silvopastoriles en México. *Pastos y Forrajes* 29:1-6.
- Eckard, R. J., C. Grainger and C. A. M. de Klein. 2010. Options for the abatement of methane and nitrous oxide from ruminant production: A review. *Livestock Science* 130:47-56.
- FAO. 2006. Las repercusiones del ganado en el medio ambiente. El desafío estriba en reconciliar dos demandas: la de productos animales y la de servicios ambientales. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, México. <http://www.fao.org/ag/esp/revista/0612sp1.htm> (Consulta: febrero 03, 2020).
- FAO. 2018. Soluciones ganaderas para combatir el cambio climático. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, México. <http://www.fao.org/3/I8098ES/i8098es.pdf> (Consulta: mayo 11, 2020)
- FAO. 2019. Agroecological and other innovative approaches. HLPE Report 14, Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO, Rome.162 p.
- Folke, C. 2006. Resilience: The emergence of a perspective for socio-ecological systems analyses. *Global Environmental Change* 16:253-267.
- Hernández-Pineda, G. S., P. E. Pedraza-Beltrán, M. Benaouda, G. J. M. Palma, N. F. Avilés, L. T. Molina and O. A. Castelán-Ortega. 2018. *Pithecellobium dulce*, *Tagetes erecta* and *Cosmos bipinnatus* on reducing enteric methane emission by dairy cows. *Ciencia Rural* DOI:10.1590/0103-8478cr20170484.
- Hook, S. E., A. D. Wright and B. W. McBride. 2010. Methanogens: methane producers of the rumen and mitigation strategies. *Archaea* 30:945785. DOI:10.1155/2010/945785.
- Hristov, A. N., M. Harper, R. Meinen, R. Day, J. Lopes, T. Ott, A. Venkatesh and C. A. Randles. 2017. Discrepancies and uncertainties in bottom-up gridded inventories of livestock methane emissions for the contiguous United States. *Environ. Sci. Technol.* 51:13668–13677.
- IPCC. 2006. Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Pro-

- gramme Intergovernmental Panel on Climate Change, Japan. <https://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/spanish/index.html> (Consulta febrero 03, 2020)
- IPCC, 2007: Cambio climático 2007: Informe de síntesis. Contribución de los Grupos de trabajo I, II y III al Cuarto Informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático. Equipo de redacción principal: Pachauri, R. K. y Reisinger, A. (directores de la publicación). IPCC, Ginebra, Suiza. ISBN 92-9169-322-7.
- Johnson, K. A. and D. E. Johnson. 1995. Methane emission from cattle. *Journal of Animal Science* 13:2483-2492.
- Johnson, K., M. Huyler, H. Westberg, B. Lamb and P. Zimmerman. 1994. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a SF6 tracer technique. *Environmental Science & Technology* 28:359-362.
- Karimi-Zindashty, Y., J. D. Macdonald, R. Desjardins and D. E. Worth. 2012. Sources of uncertainty in the IPCC Tier 2 Canadian livestock model. *The Journal of Agricultural Science* 150:1-14.
- Ku-Vera J. C., S. S. Valencia-Salazar, A. T. Piñeiro-Vázquez, I. C. Molina-Botero, J. Arroyave-Jaramillo, M. D. Montoya-Flores, F. J. Lazos-Balbuena, J. R. Canul-Solis, J. I. Arceo-Castillo, L. Ramírez-Cancino, C. S. Escobar-Restrepo, J. A. Alayón-Gamboa, G. Jiménez-Ferrer, L. M. Zavala-Escalante, O. A. Castela-Ortega, P. Quintana-Owen, A. J. Ayala-Burgos, C. F. Aguilar-Pérez and F. J. Solorio-Sánchez. 2018. Determination of methane yield in cattle fed tropical grasses as measured in open-circuit respiration chambers. *Agricultural and Forest Meteorology* 258:3-7.
- Ku-Vera, J. C., A. Piñeiro Vázquez, S. S. Valencia Salazar, F. J. Solorio Sánchez, C. F. Aguilar Pérez, A. J. Ayala Burgos y L. Ramírez Avilés. 2018. Mitigación de las emisiones de metano entérico en rumiantes alimentados con leguminosas tropicales. pp. 303-312. En: Herrera, C. J. A., A. J. Chay-Canul, F. Casanova-Lugo, A. Piñeiro-Vázquez, L. Márquez-Benavides, E. Santillán-Ferreira, J. Arce-Menocal (eds.). 2018. Avances de la investigación sobre producción animal y seguridad alimentaria en México. Morelia, Michoacán, México. ISBN: 978-607-542-022-6.
- Ku-Vera, J. C., O. A. Castela-Ortega, F. Galindo-Maldonado, J. Arango, N. Chirinda, R. Jiménez-Ocampo, S. Valencia-Salazar, E. J. Flores-Santiago, M. D. Montoya-Flores, I. C. Molina-Botero, A. T. Piñeiro-Vázquez, J. I. Arceo-Castillo, C. F. Aguilar-Pérez, L. Ramírez-Áviles and F. J. Solorio-Sánchez. 2020. Review: Strategies for enteric methane mitigation in cattle fed tropical forages. *Animal* 14:S453-S463. DOI:10.1017/S1751731120001780
- Marques, G. M., M. G. L. C. Teixeira, S. T. Tiago, T. Sousa, T. G. Morais, F. M. T. Teixeira and T. Domingos. 2020. Minimizing direct greenhouse gas emissions in livestock production: The need for a metabolic theory. *Ecological Modelling* 434:109259.
- Milne, A. E., M. J. Glendining, P. Bellamy, T. Misselbrook, S. L. Gilhespy, M. Rivas-Casado, A. Hulin, M. Van Oijen and A. P. Whitmore. 2014. Analysis of uncertainties in the estimates of nitrous oxide and methane emissions in the UK's greenhouse gas inventory for agriculture. *Atmospheric Environment* 82:94-105.
- Moss, A. R. and D. I. Givens. 2002. The effect of supplementing grass silage with soya bean meal on digestibility, in sacco degradability, rumen fermentation and methane production in sheep. *Animal Feed Science and Technology* 97:127-143.
- Padrón Ganadero Nacional. 2016. SIAP. 2019. Población ganadera. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). México.
- Palmer, L. 2014. A new climate for grazing livestock. *Nature Climate Change* 4:321-323.
- Piñeiro-Vázquez, A. T., J. R. Canul-Solis, J. A. Alayón-Gamboa, A. J. Chay-Canul, A. J. Ayala-Burgos, F. J. Solorio-Sánchez, C. F. Aguilar-Pérez and J. Ku-Vera. 2017. Energy utilization, nitrogen balance and microbial protein supply in cattle fed *Penisetum purpureum* and condensed tannins. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 101:159-169.
- Sejian, V., V. P. Maurya and S. M. K. Naqvi. 2011. Effect of thermal, nutritional and combined (thermal and nutritional) stresses on growth and reproductive performance of Malpura ewes under semi-arid tropical environment. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 95:252-258.
- https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/516353/Inventario_2018_Bovinos.pdf (Consultado: Mayo 18, 2020).
- Steinfeld, H., P. Gerber, T. Wassenaar, V. Castel, M. Rosales and C. de-Haan. 2006. *Livestock's long shadow*. FAO. Rome. 416 p.
- Tukey, J. W. 1977. *Exploratory Data Analysis*. Addison-Wesley. Reading, Massachusetts. 717 p.
- Valenzuela, M. M., M. Espinosa, E. Virgitez and E. Behrentz. 2017. Uncertainty of Greenhouse Gas Emission Models: A case in Colombia's Transport Sector. *Transportation Research Procedia* 25:4606-4622.
- Vázquez-Carrillo, M. F., H. D. Montelongo-Pérez, M. González-Ronquillo, E. Castillo-Gallegos, O. A. Castela-Ortega. 2020. Effects of Three Herbs on Methane Emissions from Beef Cattle. *Animals* 10:1671.
- Villanueva, C., I. Muhammad, F. Casasola, N. Ríos y C. Sepúlveda. 2009. Sistemas silvopastoriles: una herramienta para la adaptación al cambio climático en las fincas ganaderas en América Central. pp. 103-125. En: Sepúlveda, C. y I. Muhammad (eds.). 2009. Políticas y sistemas de incentivos para el fomento y adopción de buenas prácticas agrícolas como una medida de adaptación al cambio climático en América Central. Turrialba, C.R.: CATIE. ISBN: 978-9977-57-485-1.

- WRI. 2017. Friedrich, M. J. and A. Pickens. This Interactive Chart Explains World's Top 10 Emitters, and How They've Changed. Word Resources Institute (WRI). <https://www.wri.org/blog/2017/04/interactive-chart-explains-worlds-top-10-emitters-and-how-theyve-changed> (Consultado: Mayo 11, 2020).
- Zepeda-Cancino, R. M., M. E. Velasco-Zebadúa, J. Nahed Toral, A. Hernández-Garay, J. y J. Martínez-Tinajero. 2016. Adopción de sistemas silvopastoriles y contexto sociocultural de los productores: apoyos y limitantes. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 7:471-488.

Capítulo V
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES

5.1. Discusión general

Es importante conocer la densidad energética de los alimentos o dietas que se les ofrece a los bovinos, dado que la EM de la dieta se utiliza con diferentes eficiencias, la cual depende del alimento, el nivel de ingesta y la función para la cual es utilizada por el animal (Ferrel & Oltjen, 2008). Por ejemplo, en el Exp.1 numéricamente las dietas utilizadas tuvieron diferente densidad energética y metabolibilidad (Dieta A 0.65 vs B 0.49), lo cual se reflejó en una mayor cantidad de EMI (Dieta A 62.7 vs B 34.9 MJ / d), el hecho de incluir una cantidad pequeña de concentrado a la dieta A mejoró considerablemente la digestibilidad de la MS de ésta en un 22.75 % lo que condujo a hacer más eficiente el uso de la energía por el animal y redujo el factor Y_m en un 22.97 % ($P < 0.05$). El uso de aditivos en la dieta, puede mejorar también la eficiencia del uso de la energía como se observó en el Exp. 2, en el cual la adición de *C. bipinnatus* en la dieta, demostró que los animales obtuvieron una mayor ganancia diaria de peso y una menor pérdida de energía en forma de CH_4 , lo cual se refleja en el factor Y_m , el cual fue de 3.62 y 3.68 % para las dietas complementadas con *C. bipinnatus* y *C. citratus* respectivamente, comparado con la dieta control de 5.02% ($P < 0.05$).

Es por ejemplos como los anteriores, que conocer el estudio de la bioenergética animal y sus implicaciones, es una herramienta para comprender el metabolismo y el fraccionamiento de la energía consumida, la transferencia y su utilización por el animal, esto ofrece la posibilidad de conocer los puntos específicos para implementar soluciones a las pérdidas de energía durante su flujo en el bovino; por ejemplo, la mayor pérdida de energía se da en el incremento calórico (IC), seguido de pérdidas fecales y el calor producido en la síntesis de tejido (Johnson et al. 2003); por lo tanto un punto clave es dirigir prácticas de alimentación hacia una reducción del IC de alimentación (Ku-Vera et al. 2014), Ku-Vera (1995) refiere que IC de alimentación es más elevado en bovinos consumiendo forraje a diferencia de los animales alimentados con concentrados, una

solución para reducir el costo energético del consumo podría ser a través de la modificación de la forma física de la ración, ya que se invertiría menos tiempo dedicado al consumo y probablemente a la rumia.

El manejo en la alimentación, como el realizado en los experimentos descritos en los Capítulos II y III, puede ser la diferencia entre una mayor y menor producción, sin embargo, aunque parece sencillo, es difícil definir con precisión la eficiencia de un requerimiento energético o la producción del animal (Johnson et al. 2003), para lograrlo se necesitan más estudios enfocados en el tema, Ku-Vera (1995) menciona que es una fuente potencial de investigación que eventualmente podría conducir a un incremento en la eficiencia del uso de la energía en los rumiantes, en países como México, donde la eficacia de producción de ganado bovino es baja.

Siguiendo esta línea, varios autores muestran su crítica hacia los sistemas de alimentación (SA), actualmente utilizados, Old et al. (2018) menciona que el sistema de energía neta al ser desarrollado con modelos matemáticos y no directamente relacionados con procesos metabólicos, el cual es un proceso dinámico, posee un enfoque empírico, y estos SA deben de ser reevaluados y rechazados si no son los adecuados para describir la utilización de la energía por los animales, asimismo, explica que una mejor comprensión de las vías bioquímicas y estequiométricas en conjunto con el uso de herramientas actuales, el trabajo colaborativo para la integración y expansión de modelos bioquímicos son necesario para el desarrollo de nuevos modelos para su uso en sistemas de alimentación prácticos. Dentro de este contexto, Johnson et al. (2003) menciona que aunque desde hace mucho tiempo se han reconocido las diferencias entre individuos; los requisitos de mantenimiento y las eficiencias no han sido sustancialmente modificadas durante los últimos 100 años de producción intensiva, las razones, menciona, se deben a la falta de un objetivo de selección consistente, definiciones vagas e inconsistentes de eficiencia y el poco enfoque del

estudio en la variabilidad individual de la eficiencia con la que se utiliza la energía por el ganado; recomienda prestar atención en las variaciones de animales individuales en eficiencia energética, estudiando el CMS, digestión del alimento, metabolismo, actividad y termorregulación, ganancias de peso, entre otras, puesto que se han centrado en el estudio de grupos o genotipos específicos. De igual forma Tedeschi et al. (2017) menciona que el tratar de responder hipótesis aisladas ha dado como resultado conocimiento limitado, y se requiere integrar la información para conocer su funcionamiento en conjunto, para lograrlo se requiere investigación adicional, que a su vez requiere financiamiento, el cual desafortunadamente es más escaso en todo el mundo. Igualmente, Johnson et al. (2003) manifiestan la necesidad de conocimiento nuevo sobre los factores que intervienen en la necesidad y uso de la energía, así como la implementación de técnicas actuales, que provean información para permitir un avance con miras de conseguir mayor eficiencia energética animal en el futuro, como el uso de la genómica para la identificación de individuos más eficientes, Ku-Vera et al. (2014) expone la importancia de identificar las razas o cruzas de ganado con el menor requerimiento de EM para el mantenimiento e incrementar así la eficiencia energética de la producción de carne. Ferrel & Oltjen (2008) por su parte sugieren que la aplicación de modelos de simulación dinámica puede ser capaz de caracterizar la respuesta animal con una gama amplia de las condiciones en la que se encuentren, lo cual daría como resultado una mayor precisión y aplicaciones más amplias respecto a los SA tradicionales con enfoques empíricos.

Por lo tanto, el uso de valores fijos para el cálculo de requerimientos energéticos en ganado de carne, debería de reconsiderarse, por mencionar un ejemplo en nuestro estudio, Capítulo II, se encontraron valores EM:ED de 0.87 y 0.83 para la dieta A y B respectivamente, lo cual cae fuera de los valores establecidos por SA como el NRC, lo cual sugiere la actualización y generación de ecuaciones de predicción para convertir ED a EM acorde al contexto de cada país; tal como

exponen Ibihi et al. (2021), quienes desarrollaron una serie de ecuaciones para definir EM:ED con una amplia gama de dietas, sexo y niveles de ingesta, obteniendo valores de 0.83 a 0.89, y concluyeron que para mejorar la productividad animal y maximizar el rendimiento económico para los productores de ganado de carne se debe de reevaluar el factor de conversión de EM:ED del ganado de otras regiones y continentes de acuerdo con la especificidad de la raza y la calidad del alimento para comprender los mecanismos subyacentes que afectan la conversión de ED a EM. De la misma forma Block et al. (2010) indican la falta de exactitud y precisión respecto a los requerimientos de energía del modelo NRC (2000) y las ecuaciones de CMS, recalcan la necesidad del desarrollo de ecuaciones de CMS alternativas y el refinamiento de las que se encuentran dirigidas hacia el mantenimiento y ganancia diaria de peso, ya que la falta de exactitud limita su uso en condiciones comerciales y pone en duda la aplicabilidad práctica del modelo. Desafortunadamente, no simplemente es reemplazar la proporción fija de 82% ME:DE con una ecuación para predecir ME a partir de ED, ya que la predicción de EN depende directamente del valor EM:ED que a su vez es utilizado para el cálculo de EM que finalmente se utilizó para el desarrollo de las ecuaciones de EN originales; lo cual refleja la dependencia del sistema en ED-EM-EN, es por ello que se requiere una revisión completa al solo alterar uno de los valores de estos componentes (Tedeschi et al. 2017).

Por otra parte, Mendoza-Martínez et al. (2008) subrayan la importancia de considerar las posibles estrategias nutricionales que puedan incrementar la eficiencia de utilización de la energía en los diferentes sistemas de producción; como lo observado en los resultados del Exp.2 y 3, Capítulo III, donde a pesar de que los consumos de ED no fueron diferentes entre los tratamientos, se observó una reducción del Factor Y_m , con los tratamientos de *C. bipinnatus* y *C. citratus* y por ende, una reducción en la emisión de metano en términos de $g\ CH_4/kg\ CMS$, lo cual sugiere que la energía

que no fue perdida en forma de CH₄ se utilizó por el animal, contribuyendo a reducir las emisiones de este GEI al medio ambiente. Naumman et al. (2017) mencionan que el objetivo de disminuir las emisiones de CH₄ del ganado bovino no debe comprometer la producción animal, lo cual es posible lograr con el uso de taninos condensados. Bhatta (2015) expone que las estrategias de mitigación de metano producido por fermentación entérica más prometedoras se basan precisamente en modificar la composición de la dieta y usar recursos locales y de bajo costo, sin embargo, aunque los metabolitos secundarios de plantas como los taninos, las saponinas y los aceites esenciales parecen muy prometedores para suprimir las emisiones de metano entérico, los resultados no son consistentes en varios estudios debido a las grandes variaciones en la composición química de los compuestos, las dosis y la composición del alimento. Diversos autores (Ganjewala 2009; Ekpenyong et al. 2014; Bhatta 2015; Avoseh et al. 2015) acentúan que el contenido de estos fitoquímicos en las plantas se encuentra altamente influenciado por la región geográfica, la genética, el medio ambiente, la parte de la planta utilizada, método de conservación o extracción, edad y temporada de corte. Aunque *C. citratus* tuvo una respuesta prometedora en ambos experimentos, in vivo, es necesario dar continuidad a la línea de investigación, por factores como los anteriormente descritos.

5.2. Conclusiones generales

Bajo las condiciones experimentales y con los animales y alimentos utilizados en los estudios:

- Fue posible estimar la partición de la energía bruta consumida, factor Y_m , metabolicidad y densidad energética de las dietas, se logró determinar la energía metabolizable consumida de los bovinos a partir de la cuantificación de emisiones de CH_4 , en una región templada de México.
- Asimismo, al determinarse la pérdida de gas CH_4 , se identificó a este como un punto clave de pérdida de energía, por lo cual se logró el desarrollo de estrategias de mitigación de CH_4 producido por fermentación entérica, para eficientizar el uso de la energía bruta ingerida.
- Se identificó a *C.citratus* como una estrategia prometedora y viable para reducir las emisiones de metano entérico en el ganado bajo estudio.

6. Referencias

Abdalla AL, Louvandini H, Sallam SMAH, Bueno IC Da S, Tsai SM, Figueira AV de O. In vitro evaluation, in vivo quantification, and microbial diversity studies of nutritional strategies for reducing enteric methane production. *Trop Anim Health Product* 2012;44:953–64. DOI: 10.1007/s11250-011-9992-0AFRC Energy and Protein Requirements of Ruminants. An Advisory Manual Prepared by the Agricultural Food and Research Council Technical Committee on Responses to Nutrients. Wallingford (UK): CAB International, 1993

Aguilera J. Desarrollo de la calorimetría y su contribución al progreso de la bioenergética animal. Discurso Académico en Anales de la Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía oriental. 1991;3(1):7-22

Agus A, Al AM, Hanim C, Babikian H, Babikian Y, Jiaravanon B. Addition of mineral premix enriched with 'BAV' blend of essential oils in the ration of lactating dairy cattle on the feed intake, body weight and milk production. In Baumont R, Silberberg M, Cassar-Malek I, editors. Proceedings of the 10th International Symposium on the Nutrition of Herbivores; 2018 sept 2-6; Clermont-Ferrand, France: Animal Consortium, 2018:178.

Améndola R, Castillo GE, Martínez PA. Country pasture/forage resource profiles. México. Country pasture profiles. Roma, Italia: FAO, 2005:68

ARC The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock: Technical Review. Farnham Royal, England: Published on behalf of the Agricultural Research Council by the Commonwealth Agricultural Bureaux, 1980.

Avoseh O, Oyedeji O, Rungqu P, Nkeh-Chungag B, Oyedeji A. Cymbopogon species; ethnopharmacology, phytochemistry and the pharmacological importance. *Molecules* 2015;20(5):7438-53. DOI: 10.3390/molecules20057438.

Beauchemin K, McAllister T, McGinn S. Dietary mitigation of enteric methane from cattle. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science. Nutr Natur Resour* 2009;4:1–18. DOI: 0.1079/PAVSNNR20094035

Becker PM, van Wikselaar PG, Franssen MCR, de Vos CHR, Hall RD, Beekwilder J. Evidence for a hydrogen-sink mechanism of (+) catechin-mediated emission reduction of the ruminant greenhouse gas methane. *Metabolomics* 2014;0:179–189. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11306-013-0554-5>

Benaouda M. 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 de doctorado). Toluca (Estado de México) México: Univ Autónoma del Estado de México, 2018.

Bhatta. Reducing Enteric Methane Emission Using Plant Secondary Metabolites. In: Sejjan V, Gaughan J, Baumgard L, Prasad C, editors. *Climate Change Impact on Livestock: Adaptation and Mitigation*. India: Springer, 2015:273-284

Blaxter LK. Energy metabolism of ruminants. London: Hutchinson and Co. (Publishers), 1964.

Block HC, Bourne JL, Lardner HA, McKinnon JJ. Evaluation of NRC (2000) model energy requirement and DMI equation accuracy and precision for wintering beef cows in western Canada. *Can J Anim Sci* 2010;90(2):245-258. DOI: 10.4141/CJAS09072

Brouwer E. Report of sub-committee on constants and factors. In: Blaxter KL, editor. *Energy metabolism of farm animals*. London: Academic Press, 1965:441-443

Buddle BM, Denis M, Attwood GT, Altermann E, Janssen PH, Ronimus RS, Pinares-Patiño CS, Muetzel S, Neil Wedlock D. Strategies to reduce methane emissions from farmed ruminants grazing on pasture. *Vet J* 2011;188(1):11-7. DOI: 10.1016/j.tvjl.2010.02.019.

Cardoso-Gutiérrez E, Aranda-Aguirre E, Robles-Jiménez LE, Castelán-Ortega OA, Chay-Canul AJ, Foggi G, Ángeles-Hernández JC, et al. Effect of tannins from tropical plants on methane production from ruminants: A systematic review. *Vet Anim Sci* 2021;14: 100214. DOI: 10.1016/j.vas.2021.100214

Castelán-Ortega OA, Ku-Vera JC, Ángeles-Hernández JC, Benaouda M, Hernández-Pineda GS, Molina TL, Ramírez-Cancino L, et al. Ganadería. En: Paz-Pellat F, Hernández-Ayón JM, Sosa-Ávalos R, Velázquez-Rodríguez AS, editores. Estado del ciclo del carbono en México: Agenda azul y verde. Programa Mexicano del Carbono: Texcoco, Estado de México, 2019: 492-528.

Castelán-Ortega OA, Pedraza-Beltrán PE, Hernández-Pineda GS, Benaouda M, González-Ronquillo M, Molina L, Ku-Vera JC, et al. Construction and operation of a respiration chamber of the head-box type for methane measurement from cattle. *Animals* 2020;10(2): 227. DOI: 10.3390/ani10020227.

Castillejos L, Calsamiglia S, Ferret A. Effect of Essential Oil Active Compounds on Rumen Microbial Fermentation and Nutrient Flow In Vitro Systems. *J Dairy Sci* 2006;89(7):2649–2658. DOI:10.3168/jds.s0022-0302(06)72341-4

Castillejos VL. Modificación de la fermentación microbiana ruminal mediante compuestos esenciales (tesis de doctorado). Bellaterra, España: Universidad Autónoma de Barcelona, 2005.

Castillo-González AR, Burrola-Barraza ME, Domínguez-Viveros J, Chávez-Martínez A. Rumen microorganisms and fermentation. *Arch Med Vet* 2014;46:349-361. DOI: 10.4067/S0301-732X2014000300003

Cengel YA. Thermodynamics. An Engineering Approach. New York, U.S.A: McGraw-Hill, 2011.

Cersosimo LM, Wright ADG. Estimation Methodologies for Enteric Methane Emission in Ruminants. In: Sejian V, Gaughan J, Baumgard L, Prasad C, editors. Climate Change Impact on Livestock: Adaptation and Mitigation. India: Springer, 2015:209-220

Cheel J, Theodoluz C, Rodríguez J, Schmeda-Hirschmann G. Free Radical Scavengers and Antioxidants from Lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.) *J Agric Food Chem* 2005;53:2511–2517. DOI: 10.1021/jf0479766

Church The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition. Waveland Press, 1993.

CSIRO Nutrient requirements of domesticated ruminants. Australia (Collingwood): CSIRO Publishing, 2007.

Cottle DJ, Nolan JV, Wiedemann SG. Ruminant enteric methane mitigation: a review. *Anim Prod Sci* 2011;51:491-514.

Criscioni FP. Necesidades energéticas en ovejas de raza Guirra determinadas por dos métodos de calorimetría indirecta (tesis de maestría). Valencia España: Universidad Politécnica de Valencia, 2012.

Da Fonseca MP, Borges ALCC, Carvalho PHA, e Silva RR, Gonçalves LC, Borges I, et al. Energy partitioning in cattle fed diets based on tropical forage with the inclusion of antibiotic additives. *PLoS ONE* 2019;14(4):e0211565. DOI:10.1371/journal.pone.0211565

DeShazer JA, Yen JT. Chapter 3: In DeShazer JA, editor. *Livestock Energetics and Thermal Environmental Management*, St. Joseph Mich: ASABE, 2009: 73-112.

Dutta S, Sunita M, Mohan L, Bhattacharyya PR. A Short Review on Chemical Composition Therapeutic Use and Enzyme Inhibition Activities of *Cymbopogon* species. 2016;9(49):1-9. DOI: 10.17485/ijst/2016/v9i46/87046

E Silva RR, Borges ALCC, Carvalho PHA, Souza AS, Dutra VPA, Da Sávia SJ, Ferreira LH, et al. *Respirometry and Ruminant Nutrition*. In: Yucel B, editor. *Animal Husbandry and Nutrition*. UK, London: IntechOpen 2018:171–190

Eckard RJ, Grainger C, De Klein CAM. Options for the abatement of methane and nitrous oxide from ruminant production: A review. *Livest Sci* 2010; 130:47-56. DOI: 10.1016/j.livsci.2010.02.010.

Ekpenyong C, Nyebuk D, Akpan E. Phytoconstituents and diuretic activity of *Cymbopogon citratus* leaf infusions in humans. *J Coast Life Med* 2014; 2(9): 704-713. DOI: 10.12980/JCLM.2.2014APJTB-2014-0086

Ekpenyong C, Akpan E, Nyebuk D. Phytochemical Constituents, Therapeutic Applications and Toxicological Profile of *Cymbopogon citratus* Stapf (DC) Leaf Extract. *J Pharmacogn Phytochem* 2014;3: 133-141.

Ferrannini E. The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism* 1988; 37(3):287-301. DOI: 10.1016/0026-0495(88)90110-2.

Ferrel CL, Oltjen JW. Net energy systems for beef cattle: Concepts, application, and future models. *J Anim Sci* 2008; 86(10):2779-2794 DOI: 10.2527/jas.20080954

Frutos P, Hervás G, Giráldez FJ, Mantecón AR. Review. Tannins and ruminant nutrition. *Span J Agric Res* 2004;2(2):191-202. DOI:10.5424/sjar/2004022-73

Galyean ML, Cole NA, Tedeschi LO, Branine ME. Board-invited review: Efficiency of converting digestible energy to metabolizable energy and reevaluation of the California Net Energy System maintenance requirements and equations for predicting dietary net energy values for beef cattle. *J Anim Sci* 2016; 94:1329-1341. DOI: 10.2527/jas.2015-0223

Galicia-Jiménez MM, Sandoval-Castro C, Rojas-Herrera R, Magaña-Sevilla H. Quimiotaxis bacteriana y flavonoides: perspectivas para el uso de probióticos. *Trop subtrop agroecosyst* 2011; 14(3):891-90004622011000300002&lng=es

Ganjewala D. *Cymbopogon* essential oils: Chemical compositions and bioactivities. *Int J Essent Oil Ther* 2009;3:56-65

Guyader J, Eugène M, Nozière P, Morgavi DP, Doreau M, Martin C. Influence of rumen protozoa on methane emission in ruminants: a meta-analysis approach. *Animal* 2014;8(11):1816-25. DOI: 10.1017/S1751731114001852.

Haque ANMA, Remadevi R, Naebe M. Lemongrass (*Cymbopogon*): a review on its structure, properties, applications and recent developments. *Cellulose* 2018; 25:5455–5477. DOI: 10.1007/s10570-018-1965-2

Hewitt PG. *Conceptual Physics*. Pearson Education, 2007.

Hernández-Pineda GS, Beltrán-Pedraza PE, Benaouda M, García-Palma JM, Nova-Avilés F, Molina L, Castelán-Ortega OA. *Pithecellobium dulce*, *Tagetes erecta* and *Cosmos bipinnatus* on reducing enteric methane emission by dairy cows. *Cienc Rural* 2018; 48(10):1-7. DOI: 10.1590/0103-8478cr20170484

Hook SE, Wright AD, McBride BW. Methanogens: methane producers of the rumen and mitigation strategies. *Archaea* 2010;2010:945785. DOI: 10.1155/2010/945785.

Hosoda K, Kuramoto K, Eruden B, Nishida T, Shioya S. The Effects of Three Herbs as Feed Supplements on Blood Metabolites, Hormones, Antioxidant Activity, IgG Concentration, and Ruminal Fermentation in Holstein Steers. *Anim Biosci* 2006; 19(1):35-41. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.2006.35>

Ibidhi R, Bharanidharan R, Kim J-G, Hong W-H, Nam I-S, Baek Y-C, Kim T-H, et al. Developing Equations for Converting Digestible Energy to Metabolizable Energy for Korean Hanwoo Beef Cattle. *Animals* 2021; 11(6):1696. DOI: 10.3390/ani11061696

INRA Institut National de la Recherche Agronomique France. Alimentation des bovins, ovins et caprins. Besoins des animaux. Valeur des aliments. Tables INRA 2007. Versailles, France: Editions Quae, 2007.

IPCC. [homepage on Internet] Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories, prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme Intergovernmental Panel on Climate Change, Japan. 2006. [update 2021; cited 2021] Available from: <https://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/spanish/index.html>

Johnson KA, Johnson DE. Methane emission from cattle. *J Anim Sci* 1995; 73:2483-2492. DOI: 10.2527/1995.7382483x

Johnson DE, Ferrel CL, Jenkins TG. The history of energetic efficiency research: Where have we been and where are we going? *J. Anim Sci* 2003;81(E. Suppl. 1):E27-E38. DOI: 10.2527/2003.8113_suppl_1E27x

Kaewpila C, Sommart K. 2016. Development of methane conversion factor models for Zebu beef cattle fed low-quality crop residues and by-products in tropical regions. *Ecol Evol* 2016; 6(20):7422-7432. DOI: 10.1002/ece3.2500.

Knapp JR, Laur GL, Vadas PA, Weiss WP, Tricario JM. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *J Dairy Sci* 2014;97(6):3231-3261 DOI: 10.3168/jds.2013-7234

Ku-Vera JC. El incremento calórico de alimentación en los rumiantes. *Vet Méx* 1995; 26 (3):263-269

Ku-Vera JC, Briceño EG, Ruiz A, Mayo R, Ayala AJ, Aguilar CF, Solorio FJ, et al. Manipulación del metabolismo energético de los rumiantes en los trópicos: opciones para mejorar la producción y la calidad de la carne y leche. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 2014;48(1):43-53.

Ku-Vera JC, Jiménez-Ocampo R, Valencia-Salazar SS, Montoya-Flores MD, Molina-Botero IC, Arango J, Gómez-Bravo CA, et al. Role of Secondary Plant Metabolites on Enteric Methane Mitigation in Ruminants. *Front Vet Sci* 2020; 7:584. DOI: 10.3389/fvets.2020.00584

Lee MA. A global comparison of the nutritive values of forage plants grown in contrasting environments. *J of Plant Res* 2018; 131: 641-654. DOI: 10.1007/s10265-018-1024-y

Lee MA, Davis AP, Chagunda MGG, Manning P. Forage quality declines with rising temperatures, with implications for livestock production and methane emissions. *Biogeosciences* 2017; 14:1403-1417. DOI: 0.5194/bg-14-1403-2017

Lofgreen GP, Garrett WN. A System for Expressing Net Energy Requirements and Feed Values for Growing and Finishing Beef Cattle. *J Anim Sci* 1968; 27(3):793–806 DOI: 10.2527/jas1968.273793x

MAFF Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. 2nd ed. publ. London: HMSO. 1984

Mendoza-Martínez GD, Plata-Pérez FX, Espinosa-Cervantes R, Lara-Bueno A. Manejo nutricional para mejorar la eficiencia de utilización de la energía en bovinos. *Universidad y ciencia* 2008; 24(1):75-87

Mirghani MES, Liyana Y, Parveen J. Bioactivity analysis of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil. *Int. Food Res J* 2012; 19(2):569-575

Molina-Botero IC, Arroyave-Jaramillo J, Valencia-Salazar S, Barahona-Rosales R, Aguilar-Pérez CF, Ayala-Burgos A, et al. Effects of tannins and saponins contained in foliage of *Gliricidia sepium* and pods of *Enterolobium cyclocarpum* on fermentation, methane emissions and rumen microbial population in crossbred heifers. *Anim Feed Sci Technol*. 2019; 251:1-11. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2019.01.011.

Moss AR, Givens DI. 2002. The effect of supplementing grass silage with soya bean meal on digestibility, in sacco degradability, rumen fermentation and methane production in sheep. *Animal Feed Science and Technology* 2002; 97:127-143. DOI: 10.1016/S0377-8401(02)00022-6

Myhre G, Shindell D, Bréon F, Collins W, Fuglestedt J, Huang J, Koch D, et al. Anthropogenic and natural radiative forcing. In: Stocker TF, Qin D, Plattner GK, Tignor M, Allen SK, Boschung J, Nauels A, et al., editors. *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge (UK) and New York (NY): Cambridge University Press, 2013.

Nanon A, Suksombat W, Beauchemin KA, Yang WZ. Short Communication: Assessment of lemongrass oil supplementation in a dairy diet on in vitro ruminal fermentation characteristics using the rumen simulation technique. *Can J Anim Sci* 2014; 94:731–736

Naumann HD, Tedeschi LO, Zeller WE, Huntley NF. The role of condensed tannins in ruminant animal production: Advances, limitations and future directions. *Rev Bras Zootec* 2017, 46:929–949, DOI:10.1590/s1806-2902017001200009.

Nehring K, Haenlein GFW. Feed Evaluation and Ration Calculation Based on Net Energy. *J Anim Sci* 1973;36:949-964

Newbold C, El Hassan S, Wang J, Ortega M, Wallace R. Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria. *Br J Nutr* 1997;78(2):237-249. DOI:10.1079/BJN19970143

Ng F, Kittelmann S, Patchett ML, Attwood GT, Janssen PH, Rakonjac J, Gagic D. An adhesin from hydrogen-utilizing rumen methanogen *Methanobrevibacter ruminantium* M1 binds a broad range of hydrogen-producing microorganisms. *Environ Microbiol* 2016;18(9):3010-21. DOI: 10.1111/1462-2920.13155.

Nienaber JA, DeShazer JA, Xin H, Hillam P, Yen JT, Ferrell CF. Chapter 4. Measuring Energetics of Biological Processes. In DeShazer JA, editor. *Livestock Energetics and Thermal Environmental Management*. St. Joseph Mich: ASABE, 2009:73-112

NRC National Research Council Nutritional. *Energetics of Domestic Animals and Glossary of Energy Terms*. Washington, DC: The National Academies Press, 1981. DOI: 10.17226/1670.

NASEM, National Research Council Nutritional *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 6th ed. Washington DC, USA: National Academy Press, 2000.

Old CA, Rossow HA, Lean IJ, Famula TR. Energetic efficiency and the first law: the California net energy system revisited. *J Anim Sci* 2018;96(11):4882-4901. DOI: 10.1093/jas/sky322.

Oskoueian E; Abdullah N, Oskoueian A. Effects of flavonoids on rumen fermentation activity, methane production, and microbial population. *Biomed Res Int* 2013;2013:1-8, DOI:10.1155/2013/349129.

Oskoueian E, Abdullah N, Oskoueian A. Effects of flavonoids on rumen fermentation activity, methane production, and microbial population. *Biomed Res Int* 2013;2013:1-8

Padalia RC, Verma RS, Chanotiya CS, Yadav AK. Chemical Fingerprinting of the Fragrant Volatiles of Nineteen Indian Cultivars of *Cymbopogon Spreng.* (Poaceae). *Rec Nat Prod* 2011;5(4):290-299

Patra AK, Saxena J. The effect and mode of action of saponins on microbial populations and fermentation in the rumen and ruminant production. *Nutr Res Rev* 2009;22(2):204-219. DOI:10.1017/S0954422409990163

Patra A, Park T, Kim M, Yu Z. Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. *J Anim Sci Biotechnol* 2017;8(13):1-18

Patra AK, Yu Z. Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of, rumen microbial populations. *Appl Environ Microbiol* 2012;78(12):4271-80. DOI: 10.1128/AEM.00309-12.

Pawar MM, Kamra DN, Agarwal N, Chaudhary LC. Effects of Essential Oils on In Vitro Methanogenesis and Feed Fermentation with Buffalo Rumen Liquor. *Agric Res* 2014;3:67-74. DOI: 10.1007/s40003-014-0092-z

Petersen MK, Mueller CJ, Mulliniks JT, Roberts AJ, DelCurto T, Waterman RC. Potential limitations of NRC in predicting energetic requirements of beef females within western U.S. grazing systems. *J Anim Sci* 2014;92(7):2800-2808. DOI: 10.2527/jas.2013-7310

Piñeiro-Vázquez AT, Canul-Solis JR, Jiménez-Ferrer GO, Alayón-Gamboa JA, Chay-Canul AJ, Ayala-Burgos AJ, Aguilar-Pérez CF, et al. Effect of condensed tannins from *Leucaena leucocephala* on rumen fermentation, methane production and population of rumen protozoa in heifers fed low-quality forage. *Asian-Australas J Anim Sci* 2018;31(11):1738-1746. DOI: 10.5713/ajas.17.0192.

Popova M, Morgavi D, Doreau M, Martin C. Production de méthane et interactions microbiennes dans le rumen. *INRA Prod Anim* 2011;24:447-460, doi:10.20870/productions-animales.2011.24.5.3277. 7

Prakashrao TP. *Studies on isolation and characterization of some important nutraceutical compounds from lemongrass (Cymbopogon citratus) and its incorporation in food products (tesis de doctorado)*. India: College of Food Technology, 2018.

Ranade SS, Thiagarajan P. Lemongrass. *Int J Pharm Sci Rev Res* 2015;35(2):162-167

Sainz RD, Fernández C, Baldwin RL. Valoración de alimentos para rumiantes en cebo: el sistema americano NRC. En: Rebollar PG, Mateos GG, De Blas C, editores. X Curso de especialización FEDNA: Avances en Nutrición y Alimentación Animal. 1994 nov 10-11; Madrid, España. FEDNA, 1994: 227-239.

Smith P, Bustamante M, Ahammad H, Clark H, Dong H. Agriculture, forestry and other land use (AFOLU). In: Edenhofer O, Pichs-Madruga R, Sokona Y, Minx JC, Farahani E, Kadner S, Seyboth K, et al. editors. *Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge (UK) and New York (NY): Cambridge University Press 2014.

Solomon OO, Enitan AF, Temitope AD, Odelade KA. Phytochemistry and pharmacological activities of *Cymbopogon citratus*: A review. *Sci Afr* 2019;6:e00137. DOI: 10.1016/j.sciaf.2019.e00137

Orozco-Durán KE, Herrera-Camacho J, Castelán-Ortega OA, Márquez-Benavides L, Buenrostro-Delgado O, Kú-Vera JC. Reducción de la metanogénesis ruminal in vitro con aceites vegetales de *Thevetia peruviana* y *Persea americana*. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 2016;3(9):335-344.

Tedeschi LO, Galyean ML, Hales KE. Recent advances in estimating protein and energy requirements of ruminants. *Anim Prod Sci* 2017;57:2237-2249. DOI: 10.1071/AN17341

Tedeschi LO. Mathematical Modeling in Ruminant Nutrition: Approaches and Paradigms, Extant Models, and Thoughts for Upcoming Predictive Analytics. *J Anim Sci* 2019;97(5):1921-1944. DOI: 10.1093/jas/skz092

USEPA. gov [homepage on the Internet] US: United States Environmental Protection Agency. Greenhouse Gas Inventory Data Explorer.; [updated 2021 Nov 15; cited 2021 Jul 11]. Available from: <https://cfpub.epa.gov/ghgdata/inventoryexplorer/#agriculture/allgas/source/current>

Valencia-Salazar SS, Piñeiro-Vázquez AT, Molina-Botero IC, Lazos-Balbuena FJ, Uuh-Narváez JJ, Segura-Campos MR, et al. Potential of *Samanea saman* pod meal for enteric methane mitigation in crossbred heifers fed low-quality tropical grass. *Agri Forest Meteorol* 2018;258:108-116. DOI: 10.1016/j.agrformet.2017.12.262

Vázquez-Arteaga Y, Pérez-León E, Rojas-Juárez L, Ancelmo-Ramírez JA. Ley de la conservación de la energía. *TEPEXI Boletín Científico de la Escuela Superior Tepeji del Río*. 2020;7(14):62-65.

Vogels GD, Hoppe WF, Stumm CK. Association of methanogenic bacteria with rumen ciliates. *Appl Environ Microbiol* 1980;40:608-612.

Wallace R. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proc Nutr Soc* 2004;63(4):621-629. DOI:10.1079/PNS2004393

Wanapat M, Chanthakhoun V, Phesatcha K, Kang S. Influence of mangosteen peel powder as a source of plant secondary compounds on rumen microorganisms, volatile fatty acids, methane and microbial protein synthesis in swamp buffaloes. *Livestock Sci* 2014;162:126-33. DOI: 10.1016/j.livsci.2014.01.025

Wanapat M, Cherdthong A, Pakdee P, Wanapat S. Manipulation of rumen ecology by dietary lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf.) powder supplementation. *J Anim Sci* 2008; 86:3497-503. DOI: 10.2527/jas.2008-0885

Wanapat M, Kang S, Khejornsart P, Wanapat S. Effects of plant herb combination supplementation on rumen fermentation and nutrient digestibility in beef cattle. *Asian-Australas J Anim Sci* 2013; 26:1127-1136. DOI: 10.5713/ajas.2013.13013

WRI. Friedrich MJ and Pickens A. This Interactive Chart Explains World's Top 10 Emitters, and How They've Changed. [homepage on the internet]. Washington DC: World Resources Institute [update 2020; cited 2021]. Available from: <https://www.wri.org/blog/2017/04/interactive-chart-explains-worlds-top-10-emitters-and-how-theyve-changed>

Zhang XM, Smith LM, Gruninger JR, Kung L, Vyas D, McGinn MS, Kindermann M, et al. Combined effects of 3-nitrooxypropanol and canola oil supplementation on methane emissions, rumen fermentation and biohydrogenation, and total tract digestibility in beef cattle, *J Anim Sci* 2021;99(4):1-10. DOI: 10.1093/jas/skab081

7. Anexos



Article

Construction and Operation of a Respiration Chamber of the Head-Box Type for Methane Measurement from Cattle

Octavio Alonso Castelán Ortega ^{1,*}, Paulina Elizabeth Pedraza Beltrán ¹,
Gloria Stefanny Hernández Pineda ¹, Mohammed Benaouda ^{1,†}, Manuel González Ronquillo ¹,
Luisa T Molina ², Juan Carlos Ku Vera ³, Hugo Daniel Montelongo Pérez ¹ and
María Fernanda Vázquez Carrillo ¹

¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Instituto Literario 100, Universidad Autónoma del Estado de México, Colonia Centro, 50000 Toluca, Estado de México, Mexico; pb_eli@yahoo.com.mx (P.E.P.B.); stefyhernandez112@hotmail.com (G.S.H.P.); mohammed.ben-aouda@inra.fr (M.B.); mrg@uaemex.mx (M.G.R.); hugo_as159@hotmail.com (H.D.M.P.); mvz.mafervazquez@gmail.com (M.F.V.C.)

² Molina Center for Strategic Studies in Energy and the Environment, La Jolla, CA 92037, USA; ltmolina@mit.edu

³ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Carretera Mérida-Xmatkuil km 15.5, 97100 Mérida, Yucatán, Mexico; kvera@correo.uady.mx

* Correspondence: oacastelano@uaemex.mx

† Current address: AgroSup Dijon, F-21079 Dijon Cedex France - INRA, UMR1213 Herbivores, F-63122, Saint-Genès-Champagnelle, France - Clermont Université, VetAgro Sup, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France.

Received: 10 January 2020; Accepted: 26 January 2020; Published: 31 January 2020



Simple Summary: The aim of the present work is to describe the construction and operation of a respiration chamber of the head-box type for measuring methane emissions from bovines. Methane is a greenhouse gas 28 times more potent than CO₂ in its capacity of producing the greenhouse effect and global warming. This gas is produced in considerable amounts by cattle as part of its normal digestion process; approximately 37% of the global anthropogenic methane emissions originate from the livestock industry. Measuring emissions of methane by cattle is necessary for inventory calculation and the evaluation of mitigation policies of this gas. The gold standard technique for measuring methane emissions from cattle is the respiration chamber; however, respiration chambers are expensive pieces of equipment that are not easily available for developing countries. Since a large proportion of the world's cattle population is in the developing countries, a cheaper option is necessary. A respiration chamber of the head-box type is an option because of its low cost and high accuracy in estimating emissions. This chamber can be used to determine in vivo methane emission factors for those countries that do not have full respiration chambers. It can also be used to conduct experiments to evaluate the anti-methanogenic effects of different compounds.

Abstract: This paper aims to describe the construction and operation of a respiration chamber of the head-box type for methane (CH₄) measurements in bovines. The system consists of (1) a head box with a stainless steel frame and acrylic walls, floor, and ceiling; (2) a stainless steel feeder; (3) an automatic drinking water bowl; (4) a hood made from reinforced canvas; (5) an infrared (IR) CH₄ gas analyzer, a mass flow generator, a data-acquisition system; and (6) a steel metabolic box. Six assays were conducted to determine the pure CH₄ recovery rate of the whole system in order to validate it and comply with standards of chamber operation. The gravimetric method was used for the recovery test and the recovery rate obtained was 1.04 ± 0.05. Once the system was calibrated, measurements of CH₄ were conducted using eight animals consisting of four Holstein cows with a live weight of 593.8 ± 51 kg and an average milk yield of 23.3 ± 1.8 kg d⁻¹ and four heifers with a live weight of 339 ± 28 kg. The CH₄ production values were 687 ± 123 and 248 ± 40 L CH₄ d⁻¹

Capítulo 22

GANADERÍA

Coordinadores

Octavio Alonso Castelán-Ortega¹ y Juan Carlos Ku-Vera²

Colaboradores

**Juan Carlos Ángeles-Hernández¹, Gloria Stefanny Hernández-Pineda¹,
Mohammed Benaouda¹, Luisa T. Molina³, Laura Ramírez-Cancino²,
Sofía Viridiana Castelán-Jaime¹, Ana Rosa Praga-Ayala¹, Freddy Lazos-Balbuena²,
Hugo Montelongo-Pérez¹, Manuel González-Ronquillo¹, María Fernanda Vázquez-Carrillo¹,
Eduardo Cardoso-Gutiérrez¹, Edgar Aranda-Aguirre¹, Daniela Villegas-Estrada¹,
Alicia Paulina Guadarrama-López¹ y Gilberto Apodaca-Martínez¹**

¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Campus El Cerrillo, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, Estado de México, México.

² Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, México.

³ Molina Center for Energy and the Environment. La Jolla, California, Estados Unidos.

INTRODUCCIÓN

Considerando las proyecciones del crecimiento poblacional a nivel mundial y los requerimientos de alimentación, el escenario plantea que el sector ganadería seguirá en expansión para satisfacer las demandas (FAO, 2016), aun cuando los umbrales de sostenibilidad de la actividad sean rebasados (Pelletier y Tyedmers, 2010), lo que generará una presión mayor en el calentamiento global, el ambiente y la alimentación. De acuerdo a FAO (2010), la población mundial de rumiantes es dominada por el ganado bovino con alrededor de 1 350 billones de cabezas, donde Latinoamérica cuenta con el 29.1%, Asia con el 28.4% y África con el 18.6%. En México la población de ganado bovino en los últimos 12 años se ha incrementado en un 7%, pasando de 31 a 33 millones de animales, de los cuales el ganado para carne aumentó en un 7% y lechero en 10%, respectivamente (SIAP, 2019).

En este contexto, existe una creciente preocupación a nivel mundial por el papel que juegan los rumiantes domésticos en el calentamiento global, principalmente por la producción de gases de efecto invernadero (GEI) como el metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂) a partir de la fermentación ruminal y de óxido nitroso (N₂O) por la degradación de sus heces y orina (FAO, 2006; Eckard *et al.*, 2010). A nivel mundial, no hay duda de que el sector

ganadero representa una fuente significativa de GEI, pues en forma directa contribuye al cambio climático emitiendo GEI a través de la fermentación entérica y, en forma indirecta, a través de las actividades que involucran la producción de forrajes y la conversión de bosques en pasturas para alimentar al ganado. De acuerdo con Steinfeld *et al.* (2006) el sector ganadero (todas las especies domésticas) emite 7.1 Gt de CO₂eq o aproximadamente 18% de la emisión antropogénica global de GEI. Entre los GEI que emite el ganado, el metano juega un papel importante ya que se produce en grandes volúmenes, hasta 700 L por día en el caso de una vaca adulta y es 28 veces más activo en su efecto invernadero que el CO₂ (IPCC, 2013), además de que tiene una vida media de 9 a 15 años en la atmósfera (Eckard *et al.*, 2010). En América Latina los trabajos en el subsector ganadería se han orientado principalmente a la obtención de factores de emisión e inventarios de GEI (Benaouda *et al.*, 2017), dadas las altas incertidumbres que prevalecen al utilizar factores de emisión por defecto del IPCC.

A pesar de la importancia del ganado bovino en la emisión de gases de efecto invernadero, en México nunca se había medido *in vivo* la producción de CH₄ por los bovinos, cuya población asciende actualmente a más de 33 millones de cabezas (SIAP, 2019), son la especie doméstica más numerosa después de las aves y la que



Enteric methane mitigation strategies for ruminant livestock systems in the Latin America and Caribbean region: A meta-analysis

Guilherme Francklin de Souza Congio^{a,b,*}, André Bannink^c, Olga Lucía Mayorga Mogollón^a, Latin America Methane Project Collaborators¹, Alexander Nikolov Hristov^{d,**}

^a Colombian Corporation for Agricultural Research, AGROSAVIA, Tibaitatá, Bogotá, D.C. 250047, Colombia

^b Department of Animal Science, "Luiz de Queiroz" College of Agriculture, University of São Paulo, Piracicaba, 13418-900, SP, Brazil

^c Wageningen Livestock Research, Wageningen University & Research, Wageningen, 6700, AH, the Netherlands

^d Department of Animal Science, The Pennsylvania State University, 335 Agricultural Sciences and Industries Building, University Park, 16802, PA, USA

ARTICLE INFO

Handling Editor: Yutao Wang

Keywords:

Enteric methane
Mitigation
Cattle
Sheep
Greenhouse gas emissions
Global warming

ABSTRACT

Latin America and Caribbean (LAC) is a developing region characterized for its importance for global food security, producing 23 and 11% of the global beef and milk production, respectively. The region's ruminant livestock sector however, is under scrutiny on environmental grounds due to its large contribution to enteric methane (CH₄) emissions and influence on global climate change. Thus, the identification of effective CH₄ mitigation strategies which do not compromise animal performance is urgently needed, especially in context of the Sustainable Development Goals (SDG) defined in the Paris Agreement of the United Nations. Therefore, the objectives of the current study were to: 1) collate a database of individual sheep, beef and dairy cattle records from enteric CH₄ emission studies conducted in the LAC region, and 2) perform a meta-analysis to identify feasible enteric CH₄ mitigation strategies, which do not compromise animal performance. After outlier's removal, 2745 animal records (65% of the original data) from 103 studies were retained (from 2011 to 2021) in the LAC database. Potential mitigation strategies were classified into three main categories (i.e., animal breeding, dietary, and rumen manipulation) and up to three subcategories, totaling 34 evaluated strategies. A random effects model weighted by inverse variance was used (Comprehensive Meta-Analysis V3.3.070). Six strategies decreased at least one enteric CH₄ metric and simultaneously increased milk yield (MY; dairy cattle) or average daily gain (ADG; beef cattle and sheep). The breed composition F1 Holstein × Gyr decreased CH₄ emission per MY (CH₄I_{Milk}) while increasing MY by 99%. Adequate strategies of grazing management under continuous and rotational stocking decreased CH₄ emission per ADG (CH₄I_{Gain}) by 22 and 35%, while increasing ADG by 22 and 71%, respectively. Increased dietary protein concentration, and increased concentrate level through cottonseed meal inclusion, decreased CH₄I_{Milk} and CH₄I_{Gain} by 10 and 20% and increased MY and ADG by 12 and 31%, respectively. Lastly, increased feeding level decreased CH₄I_{Gain} by 37%, while increasing ADG by 171%. The identified effective mitigation strategies can be adopted by livestock producers according to their specific needs and aid LAC countries in achieving SDG as defined in the Paris Agreement.

1. Introduction

The Latin America and Caribbean (LAC) region cattle population comprises 28% of the global herd (FAOSTAT, 2020), accounting for 23 and 11% of the global beef and milk production, respectively (FAO, 2020), and thereby plays a relevant role in meeting world's growing

animal protein demand (Conforti, 2011; Alexandratos and Bruinsma, 2012). In addition to accounting for 46% of the region's agricultural gross domestic product (FAO, 2020), the livestock sector is especially important for livelihoods and reduction of local poverty (OECD/FAO, 2019). However, despite its social and economic importance, livestock is also a major source of greenhouse gas (GHG) emissions in LAC countries, particularly enteric methane (CH₄) (Arango et al., 2020), which has a

* Corresponding author. Colombian Corporation for Agricultural Research, AGROSAVIA, Tibaitatá, Bogotá D.C. 250047, Colombia.

** Corresponding author. Department of Animal Science, The Pennsylvania State University, 335 Agricultural Sciences and Industries Building, University Park, 16802, PA, USA.

E-mail addresses: gcongio@gmail.com (G.F.S. Congio), anh13@psu.edu (A.N. Hristov).

¹ A comprehensive list of authors and affiliations appear at the end of the paper.

<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127693>

Received 22 December 2020; Received in revised form 24 April 2021; Accepted 25 May 2021


Available online 30 May 2021

0959-6526/© 2021 The Authors. Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>.

Article

Effect of Increasing Supplementation Levels of Coffee Pulp on Milk Yield and Food Intake in Dual-Purpose Cows: An Alternative Feed Byproduct for Smallholder Dairy Systems of Tropical Climate Regions

Julieta Gertrudis Estrada-Flores ¹, Paulina Elizabeth Pedraza-Beltrán ², Gilberto Yong-Ángel ³, Francisca Avilés-Nova ⁴, Adolfo-Armando Rayas-Amor ⁵, Alejandra Donají Solís-Méndez ², Manuel González-Ronquillo ² , María Fernanda Vázquez-Carrillo ² and Octavio Alonso Castelán-Ortega ^{2,*}



Citation: Estrada-Flores, J.G.; Pedraza-Beltrán, P.E.; Yong-Ángel, G.; Avilés-Nova, F.; Rayas-Amor, A.-A.; Solís-Méndez, A.D.; González-Ronquillo, M.; Vázquez-Carrillo, M.F.; Castelán-Ortega, O.A. Effect of Increasing Supplementation Levels of Coffee Pulp on Milk Yield and Food Intake in Dual-Purpose Cows: An Alternative Feed Byproduct for Smallholder Dairy Systems of Tropical Climate Regions. *Agriculture* **2021**, *11*, 416. <https://doi.org/10.3390/agriculture11050416>

Academic Editors: Vito Laudadio and Vincenzo Tufarelli

Received: 21 March 2021
Accepted: 30 April 2021
Published: 5 May 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

- ¹ Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario No. 100, Toluca CP 50000, Mexico; jgestradaf@uaemex.mx
 - ² Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario No. 100, Toluca CP 50000, Mexico; pb_eli@yahoo.com.mx (P.E.P.-B.); adsolism@uaemex.mx (A.D.S.-M.); mrg@uaemex.mx (M.G.-R.); mvz.mafervazquez@gmail.com (M.F.V.-C.)
 - ³ Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Universidad Autónoma de Chiapas, Carretera Emiliano Zapata Km. 8, Tuxtla Gutiérrez CP 29060, Mexico; Gilberto.yong@unach.mx
 - ⁴ Centro Universitario Temascaltepec, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca CP 50000, Mexico; favilesn@uaemex.mx
 - ⁵ Food Science Department, Universidad Autónoma Metropolitana Campus Lerma, Av. de las Garzas No. 10, Col. El Panteón, Municipio Lerma de Villada CP 52005, Mexico; a.rayas@correo.ler.uam.mx
- * Correspondence: oacastelano@uaemex.mx; Tel.: +52-7221274130

Abstract: Coffee is one of the main traded commodities worldwide, unfortunately, it generates massive amounts of by-products like coffee pulp (CoP), which could be utilized as an alternative feedstuff for cattle contributing to mitigate coffee production environmental damage. The objective of this work was to evaluate the effect of increasing levels of CoP supplementation on milk production, milk composition, and grass dry matter intake (GDMI) by dual-purpose tropical cows. A 4 × 4 Latin square experimental design was conducted, where four multiparous dual-purpose Holstein × Cebu cows with an average live weight of 477 ± 7 kg and milk yield of 12.1 ± 2.7 kg/d were used. The cows grazed 10 h/d on a *Cynodon plectostachius* sward with a stocking rate of three cows/ha. All cows received 6 kg/d DM of an experimental concentrate (EC), and the treatments consisted of four supplementation levels of CoP: T1 = 0, T2 = 0.6, T3 = 0.9, and T4 = 1.2 kg DM/d, which was provided on top of the concentrate and mixed with the EC. Grass intake was determined by the n-alkanes technique. A significant difference was observed for the average total daily DM intake ($p < 0.02$). No significant differences ($p > 0.05$) were observed for milk yield, milk composition, body weight, and GDMI for all the inclusion levels of CoP. It was concluded that CoP can be included at levels of 0.6 to 0.9 kg DM/d in the diets of cows without compromising milk yield or GDMI.

Keywords: coffee pulp; *Cynodon plectostachius*; milk composition; tannins; polyphenols; by-pass protein; sustainable cattle production; local feed resources; coffee waste products; substitution rate

1. Introduction

Coffee (*Coffea arabica*) is one of the largest traded commodities in the world, ranked second, just after crude oil, among all commodities [1]. For example, in 2018, coffee world production was 9.50 million tons [2]. Approximately sixty tropical and subtropical countries produce coffee extensively, being for some of them the main agricultural export product [3]. Mexico is the seventh coffee producer in the world with more than 700,000 ha cultivated by 280,000 farmers [4], most of which are mixed smallholder-crop-livestock



Revista Mexicana de Agroecosistemas
Vol. 6 (Suplemento 2), 2019 16-18 de octubre ISSN:2007-9559
Memoria de artículos en extenso y resúmenes
“XLVI Reunión Científica de la Asociación Mexicana para la Producción
Animal y Seguridad Alimentaria, A. C.”

ESTIMACIÓN DE LA PARTICIÓN DE LA ENERGÍA BRUTA CONSUMIDA POR BOVINOS A PARTIR DE LA CUANTIFICACIÓN DE SUS EMISIONES DE METANO

[ESTIMATION OF THE PARTITION OF THE GROSS ENERGY INTAKE IN CATTLE THROUGH METHANE EMISSIONS QUANTIFICATION]

María Fernanda Vázquez-Carrillo¹, Octavio Alonso Castelán-Ortega^{1§}, Epigmenio Castillo-Gallegos², Hugo Daniel Pérez-Montelongo¹, Eduardo Cardoso-Gutiérrez¹

¹Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México. C.P. 50090. ²Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical. Km 7.5 Carretera Federal Martínez de la Torre-Tlapacoyan, Veracruz. C.P. 93600. [§]Autor para correspondencia: (oaco2002@yahoo.com.mx).

RESUMEN

Conociendo el metabolismo de la energía y su fraccionamiento en los bovinos se pueden definir las necesidades energéticas y la capacidad de los alimentos para satisfacerlas, esto facilita el diseño de sistemas de alimentación con los que se puede predecir el balance energético del animal. El objetivo del estudio fue estimar la partición de la energía bruta consumida por el animal, la metabolicidad de la dieta y el factor Ym a través de la cuantificación de las emisiones de metano por la técnica de la cámara de respiración de circuito abierto. Se utilizaron cuatro bovinos de 206 ± 39.7 kg de peso vivo inicial; distribuidos en un diseño completamente al azar, asignados a dos dietas o tratamientos: La dieta A estuvo compuesta por 74% de ensilado de maíz + 26% de concentrado y la dieta B de 100% de ensilado de maíz. Se midió el consumo de materia seca (CMS, kg), producción y energía bruta de las heces (EB, MJ kg⁻¹ MS) y de metano (MJ L⁻¹ CH₄ día⁻¹), así como la digestibilidad (DIG, %) y EB de las dietas. Con dichos datos se calcularon la densidad energética de la dieta y energía digestible (EDi) y la energía metabolizable (EMi) consumida. Los resultados fueron analizados mediante el uso del programa MINITAB[®] Versión 14. El CMS, la DIG, la producción de L CH₄ kg⁻¹ de MS, la ED, la EM y el consumo de éstas fue mayor ($p \leq 0.05$) en la dieta A con respecto a la B. La partición de la energía bruta consumida, la metabolicidad de la dieta y el factor Ym se pudieron calcular a partir de medición de las emisiones de metano.

Palabras clave: Calorimetría, consumo, digestibilidad, Ym .

ABSTRACT

Knowing the metabolism of energy and its fractionation in cattle can define the energy needs and the ability of food to satisfy them, this facilitates the design of feeding systems with which the energy balance of the animal can be predicted. The aim of the present study was to estimate the partition of the gross energy consumed by the animal, the metabolicity and Ym factor through the quantification of methane emissions by the technique of the open circuit respiration chamber. Four bovines of 206 ± 39.7 kg of initial body weight were used; distributed in a completely randomized

1.5. Emisiones de metano entérico en ganadería bovina en México: la necesidad impostergable de contar con inventarios nacionales precisos, investigación y estrategias viables de mitigación

Vázquez-Carrillo María Fernanda¹; Kebreab Ermias²; González-Ronquillo Manuel³ y **Castelán-Ortega Octavio Alonso³**

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

²Department of Animal Science, University of California, Davis, Estados Unidos.

³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México.

Autor para correspondencia: oaco2002@yahoo.com.mx.

Resumen

El sector ganadero contribuye al calentamiento global con el 18% de la emisión antropogénica total de gases de efecto invernadero (GEI), estas emisiones tienen su origen en la producción y procesamiento de alimento para el ganado, el uso de tierra, la fermentación entérica y el manejo de desechos de los animales. Gracias a su eficiente sistema digestivo los rumiantes pueden aprovechar una gran diversidad de plantas forrajeras, y transformarla en alimentos de alto valor biológico para la humanidad, no obstante, como resultado de este proceso se pierde parte de la energía consumida por el animal en forma de gas metano. Al año 2018, México contaba con un inventario de casi 32 millones de cabezas de ganado bovino, el cual generaba alrededor de 2039.21 ± 205.5 Gg CH₄ al año, ocupando el octavo lugar de los países productores de metano a nivel mundial. Es por lo anterior que es importante conocer e identificar los factores que intervienen en la emisión de metano por fermentación entérica, para mejorar la eficiencia de utilización de la energía de los alimentos por parte del ganado, así como obtener herramientas para la generación de inventarios precisos de este gas, con el objetivo de desarrollar **estrategias de mitigación de emisiones de metano por fermentación entérica del ganado bovino en México, tales como la inclusión de plantas taníferas en la alimentación animal, y así diseñar e implementar** políticas públicas adecuadas al contexto ganadero del país. En este sentido, el presente estudio tiene como objetivo informar sobre la importancia de la utilización de diferentes herramientas de investigación para la obtención de datos precisos y adecuados sobre la emisión de gases de efecto invernadero con miras a desarrollar políticas públicas de mitigación de emisiones de metano por fermentación entérica del ganado bovino en México. Es claro que entre más información se obtenga del sector ganadero, respecto a las variantes involucradas en la producción de metano se pueden reemplazar las aproximaciones cualitativas por cuantitativas y refinar los valores de los diferentes parámetros implicados en los modelos de predicción de emisiones, aumentando la precisión y reduciendo la incertidumbre de los inventarios.

Palabras clave: *ganado; metano; inventario; alimentación; mitigación.*

1.6. Efecto de tres plantas sobre las emisiones de metano por fermentación entérica en ganado bovino

Vázquez-Carrillo María F.¹; Montelongo-Pérez Hugo D.²; González-Ronquillo Manuel²; Castillo-Gallegos Epigmenio¹ y Castelán-Ortega Octavio A.²

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 3000, Ciudad Universitaria, Coyoacán, CP 04510, Ciudad de México.

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del estado de México. Instituto Literario 100, Colonia Centro, Toluca, CP 50000, Estado de México.

Autor para correspondencia: mafervc@comunidad.unam.mx

Resumen

Los objetivos del estudio fueron evaluar *in vivo*: 1) el efecto antimetanogénico de *Cymbopogon citratus* (CC), *Matricaria chamomilla* (MC) y *Cosmos bipinnatus* (CB) en ganado bovino alimentado con una dieta de finalización (forraje 19.4: concentrado 80.6) y 2) el efecto de niveles crecientes de inclusión de CC, 0%, 2%, 3% y 4%, en el consumo diario de materia seca (CMS) en ganado bovino alimentado con una dieta baja en concentrado (forraje 49.3:concentrado 50.7); sobre el CMS, digestibilidad, emisión y rendimiento de metano (CH₄). Para lo anterior, se realizaron dos experimentos: 1) se utilizaron 8 novillos Charolais × Pardo Suizo distribuidos en un diseño de cuadrado latino (CL) 4 × 4 repetido dos veces, los tratamientos experimentales fueron: a) dieta control (CO), b) CO + 365 g de materia seca (MS) d⁻¹ CB, c) CO + 365 g MS d⁻¹ MC y d) CO + 100 g MS d⁻¹ CC. Y 2) se utilizaron 4 novillos Charolais × Pardo Suizo distribuidos en un diseño de CL 4 × 4. Se concluyó que 100 g MS d⁻¹ de CC y 365 g MS d⁻¹ CB redujeron el rendimiento de CH₄ (g CH₄ kg MS⁻¹) (P ≤ 0.05) y en el experimento 2, la suplementación de CC a niveles superiores del 2% inclusión en la dieta, puede reducir la producción diaria de CH₄ pero a expensas de reducir la digestibilidad de la MS y las fracciones de fibra de la dieta.

Palabras clave: metano; mitigación; *Cosmos bipinnatus*; *Cymbopogon citratus*; *Matricaria chamomilla*.

8.11. Una reflexión sobre los inventarios oficiales de emisiones de metano por fermentación entérica de bovinos en México

Castelán-Ortega Octavio A¹, Vázquez-Carrillo María F.¹ y González-Ronquillo Manuel¹

¹Laboratorio de Ganadería, Medio Ambiente y Energías Renovables de la Universidad Autónoma del Estado de México. Author para correspondencia: oacastelano@uaemex.mx

Resumen

Según el último informe del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC, por sus siglas en inglés), publicado en el mes de agosto de 2021, los científicos están observando cambios en el clima de la Tierra en todas las regiones y en el sistema climático en su conjunto debido a la emisión de grandes volúmenes de gases de efecto invernadero (GEI). El sector agropecuario, forestal y otros usos de la tierra (AFOLU, por sus siglas en inglés) aportan ~24% de todas las emisiones antropogénicas de gases de efecto invernadero (GEI) en el mundo, mientras que el ganado (todas las especies domésticas) emiten ~14.5% de emisiones antropogénicas de GEI, y sólo el ganado bovino emite 9.4% de las emisiones. El ganado bovino también es la principal fuente antropogénica de emisiones de metano (CH₄) en el mundo principalmente a partir de la fermentación entérica. En México el CH₄ originado por la fermentación entérica es también la principal fuente de este gas del sector AFOLU, desafortunadamente se han hecho progresos modestos en la elaboración de inventarios de este gas, en particular en el caso de los bovinos que es la principal especie emisora. En la Sexta Comunicación Nacional y Segundo Informe Bienal de Actualización (2DOIBA) de México ante la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (UNFCCC, por sus siglas en inglés), el país recibió observaciones importantes de esta instancia internacional por la deficiente calidad del inventario de emisiones de CH₄ entérico, en este sentido el presente trabajo discute los problemas y limitantes que le impiden al país reportar un mejor inventario de este gas.

Palabras clave: *gases de efecto invernadero; metano; inventario deficiente; ganado bovino.*

8.12. Efecto de la calidad de la dieta sobre la producción de metano entérico y la eficiencia en el uso de la energía en bovinos de carne

Vázquez-Carrillo María F.¹; Montelongo-Pérez Hugo D.²; González-Ronquillo Manuel²; Castillo-Gallegos Epigmenio¹ y Castelán-Ortega Octavio A.².

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 3000, Ciudad Universitaria, Coyoacán, CP 04510, Ciudad de México.

²Laboratorio de Ganadería, Medio Ambiente y Energías Renovables de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del estado de México. Instituto Literario 100, Colonia Centro, Toluca, CP 50000, Estado de México.

Autor para correspondencia: oacastelano@uaemex.mx

Resumen

Una buena eficiencia en la utilización de la energía bruta consumida (EBi) por el bovino, se traduce en una mayor producción cárnica o láctea. Lo anterior se puede lograr disminuyendo las pérdidas de energía en forma de heces, orina o gases de fermentación, como el metano (CH₄), el cual juega un papel importante en los bovinos, ya que llegan a perder hasta el 12% del total de la EBi en forma de CH₄. El presente estudio tuvo como objetivo determinar la partición de la EBi en bovinos, la metabolicidad de las dietas (*qm*) y el factor de partición de energía consumida hacia CH₄ (*Ym*), empleando dietas y ganado de una región de clima templado de México. Se utilizaron cuatro novillonas de 206 ± 39.7 kg de peso vivo y 12 ± 0.93 meses de edad; distribuidas en un diseño completamente al azar y dos dietas: dieta A con 74% de ensilado de maíz + 26% de concentrado y dieta B con 100% de ensilado de maíz. El consumo de materia seca (CMS), digestibilidad, factor *Ym* y el rendimiento de metano g kg⁻¹ de CMS, para ambas dietas fue diferente (P < 0.05). El valor más bajo de *Ym* y más alto de *qm* se observaron en la dieta A, debido a la mayor disponibilidad de energía en comparación con la dieta B.

Palabras clave: metano; energía bruta consumida; factor *Ym*.



Mitigating Methane Emissions from Enteric Fermentation in Beef Cattle Using Three Herbs



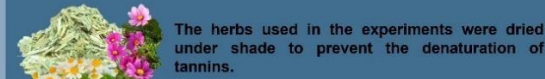
María Fernanda Vázquez-Carrillo, Hugo Daniel Montelongo-Pérez, Manuel González-Ronquillo, Epigmenio Castillo-Gallegos, Octavio A. Castelán-Ortega*
*oacastelano@uamex.mx

Background

Methane (CH₄) produced by enteric fermentation is one of the main contributors to greenhouse gases emission in the agricultural sector. The use of small amounts of tanniferous plants in ruminants' diet is a mitigation option. We conducted two experiments aimed at evaluating the *in vivo* antimethanogenic effect of *Cymbopogon citratus* (CC), *Matricaria chamomilla* (MC) and *Cosmos bipinnatus* (CB); and the inclusion of increasing levels of CC (0%, 2%, 3%, and 4% of the daily dry matter intake (DMI)) in the diet of finishing beef cattle.

Material and Methods

We used a 4 × 4 Latin square design in both experiments.



The herbs used in the experiments were dried under shade to prevent the denaturation of tannins.

The control diet (CO) was formulated to meet the metabolizable energy and protein requirements of the animals, according to the AFRC (Table 1). Four treatments were evaluated in each experiment. Each steer received each treatment once during each of the four periods.

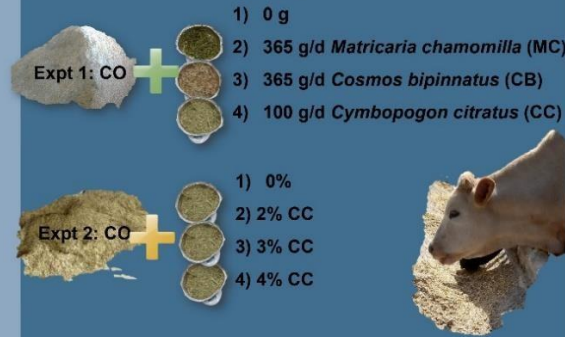


Table 1. Chemical composition of the control diets and polyphenol and tannin contents of the experimental herbs.

	Diet Expt 1	Diet Expt 2
DM (%)	92.7 ± 0.8	96.3 ± 0.3
OM (g kg/DM)	958.8 ± 7.6	938.4 ± 6.1
CP (g kg/DM)	149.4 ± 4.9	117.2 ± 7.2
EE (g kg/DM)	26.5 ± 2.0	15.7 ± 2.3
CF (g kg/DM)	55.4 ± 5.3	149.0 ± 17.2
NFC (g kg/DM)	731.9 ± 17.2	656.7 ± 17.6
GE (MJ kg/DM)	18 ± 0.3	15.6 ± 0.4
NDF (g kg/DM)	294.2 ± 128.5	426.9 ± 29.2
ADF (g kg/DM)	76.2 ± 12.7	223.1 ± 24.7

Herbs	MC	CB	CC	
			Expt 1	Expt 2
TF (g kg/DM)	5.9	9.6	9.5	7.0
TT (g kg/DM)	3.9	3.6	3.3	9.9
CT (g kg/DM)	0.2	2.3	60.7	44.0

DM = dry matter, OM = organic matter, CP = crude protein, EE = ether extract, CF = crude fiber, NFC = nonfiber carbohydrates, GE = gross energy, NDF = neutral detergent fiber, ADF = acid detergent fiber, TP = total phenols, TT = total tannins, CT = condensed tannins.

The DMI, digestibilities of DM, fibers and energy, and CH₄ emissions of each animal were measured in respiration chambers.



Results and Discussion

Table 2 shows significant differences ($p < 0.05$) for methane yield (g of CH₄/kg of DMI), ADWG, *Y_m* factor, and CH₄ emission intensity (g of CH₄/kg of ADWG). The lowest CH₄ yields ($p < 0.05$) were observed in the CC and CB treatments, where they were 32.5% and 27.6% lower than those in the CO treatment, respectively. Table 3 shows a significant effect, linear and quadratic, in total daily CH₄ production observed at the 2%, 3% and 4% CC supplementation levels, with 26%, 26.2% and 15.2% less CH₄ produced, respectively, than in the CO treatment. The digestibilities of dry matter and fibers followed the same trend, this suggests that the CC effect on CH₄ production was dose-dependent. The reduction in CH₄ production could be attributed to the high polyphenol and tannin contents in the CC. The tannins suppress methanogenesis directly by reducing the methanogenic population in the rumen or indirectly by reducing protozoa.

Table 2. Effects of *M. chamomilla*, *C. bipinnatus* and *C. citratus* supplementation on CH₄ emission in Experiment 1.

	Treatments				SEM	P-Value
	CO	MC	CB	CC		
DMI (kg/d)	7.9	8.7	10.3	9.6	0.9	0.109
DigDM (%)	78.5	82.5	82.8	77.9	2.6	0.471
DigNDF (%)	80.6	83.0	79.7	83.2	2.1	0.455
DigADF (%)	64.0	64.2	56.9	59.7	3.6	0.484
ADWG (kg/d)	1.4 ^{ab}	0.9 ^b	1.8 ^a	1.3 ^{ab}	0.2	0.029
CH ₄ (g/d)	128	124	118	107	13.3	0.700
CH ₄ (g/kg of DMI)	16.3 ^a	14.3 ^{ab}	11.8 ^b	11.0 ^b	1.1	0.009
CH ₄ (g/kg ADWG)	132 ^{ab}	149 ^a	67.5 ^b	103 ^{ab}	20.5	0.028
<i>Y_m</i> (%)	5.0 ^a	4.4 ^{ab}	3.6 ^b	3.4 ^b	0.3	0.009
DigGE (%)	78.6	84.1	84.4	80.2	2.4	0.210

CO = control diet, MC = *Matricaria chamomilla* (365 g DM/d), CB = *Cosmos bipinnatus* (365 g DM/d), CC = *Cymbopogon citratus* (100 g DM/d), DMI = dry matter intake, DigDM = digestibility of the dry matter, ADWG = average daily live weight gain, CH₄ = methane, CH₄ (g/kg of DMI) = methane yield, DigGE = digestibility of the gross energy intake, DigNDF = digestibility of the neutral detergent fiber, DigADF = digestibility of the acid detergent fiber, CH₄ (g/kg ADWG) = intensity of methane emission, *Y_m* = methane conversion factor, energy of CH₄ as a percentage of GE, SEM = standard error of the mean. Values in the same row with different superscripts letters ^{a-b} are significantly different ($p < 0.05$).

Table 3. Effects of increasing levels of *Cymbopogon citratus* supplementation on CH₄ emissions in Experiment 2.

	Treatments				SEM	P-Value	p-Value	
	CO	2% CC	3% CC	4% CC			L	Q
DMI (kg/d)	16.0	14.0	13.7	14.3	1.4	0.666	NS	NS
DigDM (%)	76.2	69.9	65.5	72.2	2.5	0.050	0.05	0.04
DigNDF (%)	71.8	65.2	54.9	66.6	1.7	0.003	0.02	0.002
DigADF (%)	71.1	63.8	56.0	64.7	1.9	0.007	0.02	0.01
ADWG (kg/d)	1.2	1.0	1.1	1.2	0.9	0.561	NS	NS
CH ₄ (g/d)	308	228	227	261	22.9	0.050	0.05	0.05
CH ₄ (g/kg of DMI)	20.0	17.6	16.9	19.9	1.2	0.262	NS	NS
<i>Y_m</i> (%)	7.0	5.9	5.8	6.6	0.4	0.197	NS	NS
DigGE (%)	77.7	73.1	66.9	76.6	1.3	0.003	NS	0.001

CO = control diet, CC = *Cymbopogon citratus* inclusion level expressed on a DM basis, DMI = dry matter intake, DigDM = digestibility of the dry matter, ADWG = average daily live weight gain, CH₄ = methane, CH₄ (g/kg of DMI) = methane yield, DigGE = digestibility of the gross energy intake, DigNDF = digestibility of the neutral detergent fiber, DigADF = digestibility of the acid detergent fiber, CH₄ (g/kg ADWG) = intensity of methane emission, *Y_m* = methane conversion factor, energy of CH₄ as a percentage of GE, SEM = standard error of the mean, L and Q: linear and quadratic effects, respectively.

Conclusions

It is concluded that CC reduces methane production, but its effects depend on the type of diet, level of inclusion and content of secondary metabolites.

References

AFRC (1993) Energy and Protein Requirements of Ruminants. An Advisory Manual Prepared by the Agricultural Food and Research Council Technical Committee on Responses to Nutrients. CAB International, Wallingford, UK.

Acknowledgments

The authors acknowledge financial support from WeBelievers, New York, NY, USA; the Universidad Autónoma del Estado de México; and the National Council for Science and Technology of Mexico (Grant CONACYT-223418). CONACYT-MEXICO provided a grant for the Ph.D. studies of María Fernanda Vázquez-Carrillo.

