



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN Y
SERVICIO EN ZOOTECNIA

POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

INDICADORES DE CALENTAMIENTO GLOBAL,
SELECTIVIDAD Y APROVECHAMIENTO DE LA DIETA
MEDIANTE LA PRODUCCIÓN DE GAS

TESIS

Que como requisito parcial
para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

Presenta:

Brayan Eduardo Martínez Hernández

Bajo la supervisión de: Luis Alberto Miranda Romero, Dr.



Junio, 2020
Chapingo, Estado de México

**INDICADORES DE CALENTAMIENTO GLOBAL, SELECTIVIDAD Y
APROVECHAMIENTO DE LA DIETA MEDIANTE LA PRODUCCIÓN DE GAS**

Tesis realizada por **BRAYAN EDUARDO MARTÍNEZ HERNÁNDEZ** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

DIRECTOR:

Dr. Luis Alberto Miranda Romero

CO-DIRECTOR:

M. en MVZ Omar Salvador Flores

ASESOR:

M.C. Carlos Sánchez del Real

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS.....	V
LISTA DE FIGURAS.....	VII
ABREVIATURAS USADAS	VIII
DEDICATORIAS.....	IX
AGRADECIMIENTOS.....	XI
DATOS BIOGRÁFICOS.....	XII
RESUMEN GENERAL.....	XIII
GENERAL ABSTRACT.....	XIV
1 INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2 REVISIÓN DE LITERATURA	6
2.1 El ecosistema ruminal y el rumiante	6
2.2 Eficiencia energética e impacto ambiental por metano	7
2.3 Selectividad.....	8
2.4 Técnica de producción de gas <i>in vitro</i> como estimador de la producción de metano.....	9
2.5 Bibliografía	11
3 INDICADOR DE CALENTAMIENTO GLOBAL A PARTIR DE LA FERMENTACIÓN RUMINAL DE ALIMENTOS CON DIFERENTES NIVELES DE ENERGÍA Y PROTEÍNA.....	15
3.1 Resumen.....	16
3.2 Abstract.....	16
3.3 Introducción.....	17
3.4 Material y Métodos	17
3.5 Resultados y discusión.....	18
3.6 Conclusión.....	19

3.7	Literatura citada.....	20
4	INDICADORES <i>IN VITRO</i> DE CALENTAMIENTO GLOBAL, SELECTIVIDAD Y UTILIZACIÓN DE LA DIETA POR OVINOS.....	26
4.1	Resumen.....	26
4.2	Abstract.....	27
4.3	Introducción.....	28
4.4	Material y métodos.....	29
4.5	Resultados y discusión.....	36
4.6	Conclusiones.....	43
4.7	Literatura citada.....	44

LISTA DE CUADROS

Capítulo 3. Indicador de calentamiento global a partir de la fermentación ruminal de alimentos con diferentes niveles de energía y proteína

- Cuadro 1. Producción de gas de fermentación *in vitro* e indicador potencial de calentamiento global de dietas con diferentes niveles de energía y proteína..... 18

Capítulo 4. Indicadores *in vitro* de calentamiento global, selectividad y utilización de la dieta por ovinos

- Cuadro 1. Ingredientes y composición de nutrientes de cinco dietas con diferentes niveles de energía metabolizable (EM) y proteína cruda (PC)..... 29
- Cuadro 2. Alimento ofrecido (AO), rechazado (AR), heces (HE) y ganancia de peso (GTP) por corderos alimentados con dietas de diferente proporción de EM:PC y, producción de bióxido de carbono y metano de la fermentación *in vitro*, en tres periodos de engorda..... 35
- Cuadro 3. Emisión de gases efecto invernadero e indicador potencial de calentamiento global de dietas con distinta proporción de energía y proteína, en tres periodos de engorda de corderos.... 38
- Cuadro 4. Volumen máximo (Vm) de gas del alimento ofrecido (AO), rechazado (AR) y heces (HE), indicador de selectividad (ISA) y utilización de la fracción fermentable (IUFA) de dietas con

relación EM:PC distinta en 42
corderos.....

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 3. Indicador de calentamiento global a partir de la fermentación ruminal de alimentos con diferentes niveles de energía y proteína

Figura	Energía metabolizable (EM) y proteína bruta (PB) en dietas	
1.	con nivel alto (A), medio (M) o bajo (B). MM; dieta de referencia recomendada por la NRC (2007) para ovinos que ganan	250 17
	g/día.....	

Capítulo 4. Indicadores *in vitro* de calentamiento global, selectividad y utilización de la dieta por ovinos

Figura	Representación espacial de la proporción de energía metabolizable (EM) y proteína cruda (PC) en dietas para ovinos.....	30
Figura	Relación de indicadores del potencial de calentamiento global (IPCG) estimado por día y por kg de ganancia de PV.....	37
Figura	Efecto de la proporción EM:PC de la dieta en la emisión de CH ₄ y el indicador del potencial de calentamiento global (IPCG) de corderos.....	40

ABREVIATURAS USADAS

TPG	Técnica de Producción de Gas <i>in vitro</i>
EM	Energía Metabolizable (Mcal kg ⁻¹)
PC	Proteína Cruda (%)
FDN	Fibra Detergente Neutro (%)
FDA	Fibra Detergente Ácido (%)
EE	Extracto Etéreo (%)
Ce	Cenizas (%)
MS	Materia Seca
CMS	Consumo de Materia Seca (kg)
PV	Peso vivo (kg)
GDP	Ganancia Diaria de Peso
GTP	Ganancia Total de Peso
Vm	Volumen máximo (mL g ⁻¹)
ISA	Indicador de selectividad animal (mL g ⁻¹)
IUFA	Indicador de utilización de la fracción fermentable (mL g ⁻¹)
CO ₂	Dióxido de carbono (mL g ⁻¹)
CH ₄	Metano ajustado (mL g ⁻¹)
CH _{4+GM}	Metano más gases menores (mL g ⁻¹)
IPCG	Indicador Potencial de Calentamiento Global (L CO ₂ eq animal d)

DEDICATORIAS

Escribir una tesis y concluir una maestría parece un asunto individual, pero la realidad es que se requiere a todo un equipo. En primer lugar, agradezco inmensamente a mi madre Angélica Hernández, a mi padre Ociel Martínez y a mi pareja Mallory Moguel por darme el espacio y el apoyo que he necesitado para hacer lo que vine a hacer aquí. Les dedico este trabajo y todo lo que el conlleva, con amor, respeto y felicidad.

A toda mi familia un inmenso gracias por seguir apoyándome en todo sentido hasta esta instancia de mi vida. A mis compañeros, colegas y amigos que contribuyeron a que no desistiera en este camino y me motivara a ser mejor cada día.

Les agradezco y dedico este trabajo de manera particular a las siguientes personas, que han estado conmigo en momentos clave para que yo sea la persona que soy ahora, y que sé que estarán en un futuro para ayudarme y superarnos mutuamente:

Martha Hernández

Camila Hernández

Olivia Hernández

Daniela Martínez

Luis Antonio Jaimes

Erick Martínez

Ulises Hernández

Por último, agradezco a las nuevas personas que pude conocer y quienes me brindaron su apoyo y amistad e hicieron que mi estancia en Chapingo fuera una experiencia más agradable: Daniel Fonseca, Alfredo Torres, Yoel Leyva, Lourdes Reyes, Florencia Sánchez, Carmen Ortiz y Laura Sandoval, gracias por su apoyo y amistad.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante mis estudios de maestría.

Agradezco a la Universidad Autónoma Chapingo por brindarme la oportunidad de superarme como persona y como profesionista, por recibirme de manera calurosa y motivante, y por colocar en mi vida a las personas correctas para que lo anterior fuera posible.

Agradezco al Posgrado en Producción Animal y a cada uno de los profesores y administrativos que lo conforman, en especial al Dr. Luis Alberto Miranda Romero por guiarme y compartir sus conocimientos y experiencias durante mi estancia en el posgrado.

Agradezco al M. en M.V.Z. Omar Salvador Flores por su confianza, apoyo y soporte para que este proyecto pudiera iniciar y concluir de manera favorable.

DATOS BIOGRÁFICOS



Datos personales

Nombre: **Brayan Eduardo Martínez Hernández**

Fecha de nacimiento: 12 de septiembre de 1993

Lugar de nacimiento: Valle de Anáhuac, México, Estados Unidos Mexicanos

No. Cartilla militar D-2084812

CURP: MAHB930912HMCRRR07

E-mail: braedma@gmail.com

Desarrollo académico

Preparatoria: Universidad Nacional Autónoma de México.
Escuela Nacional Preparatoria No 9.
Especialidad: Área II. Ciencias Biológicas y de la Salud. (2009-2011).

Licenciatura: Universidad Nacional Autónoma de México.
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.
Médico Veterinario Zootecnista. (2012-2016).
Cédula profesional: 11190982

Maestría: Universidad Autónoma Chapingo, México.
Posgrado en Producción Animal.
Maestría en Ciencias en Innovación Ganadera.
(2018-2019).

RESUMEN GENERAL

Indicadores de calentamiento global, selectividad y aprovechamiento de la dieta mediante la producción de gas

La crianza de rumiantes contribuye sustancialmente a la emisión de gases de efecto invernadero (CH_4 y CO_2); consecuentemente, al calentamiento global de la tierra. En este sentido, la formulación de dietas para rumiantes debe cumplir los objetivos de promover la mejor respuesta productiva y causar el menor impacto en el calentamiento global. La selectividad que los rumiantes hacen del alimento que se les ofrece, puede afectar tales objetivos. El gas de fermentación ruminal, medido por la técnica de producción de gas *in vitro* (TPG), puede usarse como un marcador de la fracción fermentable del alimento y para obtener indicadores como los de selectividad, aprovechamiento de la fracción fermentable del alimento y, potencial de calentamiento global. El objetivo de esta investigación fue determinar tales indicadores en función de la relación de la energía metabolizable (EM) y proteína cruda (PC) del alimento, para lo cual se realizaron dos experimentos. En el primero de ellos se determinó el indicador del potencial de calentamiento global (IPCG) a partir de la producción por fermentación *in vitro*, de CO_2 y CH_4 de cinco dietas con proporciones distintas de EM y PC, así como de muestras de heces de corderos alimentados con tales dietas. En un segundo experimento, se determinaron los indicadores de selectividad animal (ISA), utilización de la fracción fermentable del alimento (IUFA), y del potencial de calentamiento global (IPCG) *in vivo*, considerando el gas producido ($\text{mL g}^{-1} \text{MS}$) *in vitro* por las muestras de alimento ofrecido, rechazado y heces producidas, y la cantidad de alimento, rechazo y heces ($\text{g d}^{-1} \text{cordero}^{-1}$). Los resultados mostraron que el IPCG obtenido con TPG *in vitro*, fue útil para estimar el impacto ambiental del alimento de acuerdo con el nivel de EM y PC de la dieta para rumiantes. Además, los indicadores del IPCG, ISA e IUFA *in vivo* variaron en función de la proporción EM:PC de la dieta, por lo que puede tener implicaciones útiles y prácticas para estimar su posible impacto en la respuesta productiva e impacto en el calentamiento global.

Palabras clave: Impacto ambiental, corderos, energía metabolizable, proteína cruda, consorcio microbiano ruminal.

GENERAL ABSTRACT

Indicators of global warming, selectivity and use of diet through gas production

The breeding of ruminants contributes substantially to the emission of greenhouse gases (CH₄ and CO₂); consequently, to global warming of the earth. In this sense, the formulation of diets for ruminants should meet the objectives of promoting the best productive response and causing the least impact on global warming. The selectivity that ruminants make of the food offered to them can affect these objectives. The ruminal gas fermentation measured by the *in vitro* gas production technique (TPG), can be used as a marker of the fermentable fraction of the food and to obtain indicators such as selectivity, use of the fermentable fraction of the food, and the potential of global warming. The objective of this investigation was to determine such indicators based on the ratio of the metabolizable energy (ME) and crude protein (PC) of the food, for which two experiments were carried out. In the first of these, the indicator of global warming potential (IPCG) was determined from the production by *in vitro* fermentation of CO₂ and CH₄ from five diets with different proportions of ME and PC, as well as samples of lamb feces fed on such diets. In a second experiment, the indicators of animal selectivity (ISA), use of the fermentable fraction of the food (IUFA), and global warming potential (IPCG) *in vivo* were determined, considering the gas produced (mL g⁻¹ MS) *in vitro* by the samples of food offered, rejected and feces produced, and the amount of food, rejection and feces (g d⁻¹ lamb⁻¹). The results showed that the IPCG obtained with TPG *in vitro* was useful for estimating the environmental impact of the feed according to the level of ME and PC of the diet for ruminants. Also, the indicators of IPCG, ISA and IUFA *in vivo* varied depending on the ME:CP ratio of the diet, so it may have useful and practical implications to estimate its possible impact on the productive response and impact on global warming.

Keywords: Environmental impact, lambs, metabolizable energy, crude protein, ruminal microbial consortium.

1 INTRODUCCIÓN GENERAL

Los rumiantes cumplen una función importante en los ecosistemas y para la sociedad humana, debido a su capacidad para transformar alimentos fibrosos como los forrajes, en proteína animal (Russell & Rychlik, 2001); sin embargo, su crianza contribuye con la cuarta parte del CH₄ producido mundialmente, el cual junto con el calor y el CO₂ que también generan, son uno de los factores que participan en el calentamiento global (Beauchemin, Kreuzer, O'Mara, & McAllister, 2008; Castelán-Ortega, Ku-Vera, & Estrada-Flores, 2014; Ramin & Huhtanen, 2013). Por otro lado, es posible que el potencial de las dietas formuladas para promover la mejor respuesta productiva, con un menor impacto en el calentamiento global, no se éste logrando debido a la selectividad que realizan los animales sobre el alimento, tanto en los sistemas de pastoreo como en los de estabulación. Ambos aspectos, selectividad y producción de metano, se relacionan con la calidad nutritiva del alimento consumido, y con los requisitos nutrimentales del rumiante y de los microorganismos ruminales (García, Carrere, Soussana, & Baumont, 2003).

Los nutriólogos de rumiantes cuentan con diversos métodos (*in vivo*, *in situ* e *in vitro*) para estimar la emisión de gases efecto invernadero, principalmente CH₄, y algunos otros para estimar selectividad (Klee, Pulido, & Chavarría, 2000; Rodríguez et al., 2019). Las técnicas *in vitro*, en contraste con las técnicas *in vivo* e *in situ*, son prácticas, de bajo costo y poco contaminantes (Danielsson, Ramin, Bertilsson, Lund, & Huhtanen, 2017; Ramin & Huhtanen, 2012). La técnica de producción de gas *in vitro* (TPG) (Menke & Steingass, 1988; Theodorou, Williams, Dhanoa, McAllan, & France, 1994) destaca en las primeras décadas del siglo XXI. Esta técnica mide el gas derivado, directamente e indirectamente, por la fermentación de los componentes del alimento, principalmente carbohidratos, y la neutralización química de los ácidos grasos volátiles por el buffer de carbonato, con el que se diluye el inóculo ruminal usado en la TPG.

Con la TPG se pueden estimar variables de la cinética de fermentación como el volumen máximo, la tasa y la fase Lag de la producción de gas; así como la proporción de CO₂ y CH₄ (Bhatta et al., 2006). Los volúmenes de CO₂ y CH₄ (mL g⁻¹ MS) producidos *in vitro*, en 24 h de actividad fermentativa por microorganismos ruminales, puede utilizarse para estimar un indicador del potencial de calentamiento global (Eugéne et al., 2019) *in vitro* e *in vivo*, expresado en mL de CO₂ eq, y considerando que el CH₄ refleja 23 veces más calor que el CO₂ (González & Carlsson, 2007; Yan et al., 2010). Por otro lado, el volumen máximo (Vm; mL g⁻¹ MS) de gas producido, a 72 h de fermentación *in vitro*, también puede utilizarse como indicador para estimar la selectividad y aprovechamiento de la fracción fermentable del alimento (Miranda, Vazquez, Burgueño, & Aranda, 2018).

El objetivo de la presente investigación fue determinar la factibilidad de aplicación de la TPG para generar: 1) un indicador *in vitro* del potencial de calentamiento global de dietas con niveles de energía metabolizable y proteína cruda (Mcal: %, kg⁻¹) diferentes, y 2) indicadores *in vivo* de selectividad y aprovechamiento del alimento, y del potencial de calentamiento global por corderos alimentados con dietas de nivel de energía metabolizable y proteína cruda (Mcal: %, kg⁻¹) diferentes.

Literatura citada

Beauchemin, K. A., Kreuzer, M., O'Mara, F., & McAllister, T. A. (2008). Nutritional management for enteric methane abatement: A review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48(2), 21–27. <https://doi.org/10.1071/ea07199>

Bhatta, R., Tajima, K., Takusari, N., Higuchi, K., Enish, O., & Kurihara, M. (2006). Comparison of sulfur hexafluoride tracer technique, rumen simulation technique and *in vitro* gas production techniques for methane

production from ruminant feeds. *International Congress Series*, 1293(July), 58–61.

Castelán-Ortega, O. A., Ku-Vera, J. C., & Estrada-Flores, J. G. (2014). Modeling methane emissions and methane inventories for cattle production systems in Mexico. *Atmósfera*, 27(2), 185–191. [https://doi.org/10.1016/S0187-6236\(14\)71109-9](https://doi.org/10.1016/S0187-6236(14)71109-9)

Danielsson, R., Ramin, M., Bertilsson, J., Lund, P., & Huhtanen, P. (2017). Evaluation of a gas *in vitro* system for predicting methane production *in vivo*. *Journal of Dairy Science*, 100(11), 8881–8894. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12675>

Eugéne, M., Sauvant, D., Noziere, P., Viallard, D., Oueslati, K., Lherm, M., & Doreau, M. (2019). A new Tier 3 method to calculate methane emission inventory for ruminants. *Journal of Environmental Management*, 231, 982–988.

García, F., Carrere, P., Soussana, J. F., & Baumont, R. (2003). The ability of sheep at different stocking rates to maintain the quality and quantity of their diet during the grazing season. *The Journal of Agricultural Science*, 140, 113–124. <https://doi.org/10.1017/S0021859602002769>

González, D. A., & Carlsson, K. A. (2007). Emisiones de gases efecto invernadero con alto potencial de calentamiento global: el sector agropecuario. *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente*, 11, 7–14.

Klee, G. G., Pulido, F. R., & Chavarría, R. J. (2000). Selectivity of ewes grazing on wheat stubble. *Agricultura Técnica*, 60(4).

Menke, K. H., & Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28, 7–55.

- Miranda-Romero, L. A., Vazquez-Mendoza, P., Burgueño-Ferreira, J. A., & Aranda-Osorio, G. (2018). Nutritive value of cactus pear silages for finishing lambs. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 20, 196–215.
- Ramin, M., & Huhtanen, P. (2012). Development of an *in vitro* method for determination of methane production kinetics using a fully automated *in vitro* gas system-A modelling approach. *Animal Feed Science and Technology*, 174(3–4), 190–200. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.03.008>
- Ramin, M., & Huhtanen, P. (2013). Development of equations for predicting methane emissions from ruminants. *Journal of Dairy Science*, 96(4), 2476–2493. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6095>
- Rodríguez, J. C., Paz P., F., Watts, C., Lizárraga C. C., Yépez G., E., Jiménez F. G., Macías V. C. E. (2019). Mediciones de metano y bióxido de carbono usando la técnica de covarianza de vórtices en ganado lechero semiestabulado en Sonora, México. *Terra Latinoamericana*, 37, 69–80. Retrieved from <http://www.terralatinoamericana.org.mx/index.php/terra/article/view/412>
- Russell, J. B., & Rychlik, J. L. (2001). Factors that alter rumen microbial ecology. *Science*, 292(5519), 1119–1122. <https://doi.org/10.1126/science.1058830>
- Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, M. S., & France, A. B. J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48, 185–197.
- Yan, T., Mayne, C. S., Gordon, F. G., Porter, M. G., Agnew, R. E., Patterson, D. C., & Kilpatrick, D. J. (2010). Mitigation of enteric methane emissions through improving efficiency of energy utilization and productivity in

lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93(6), 2630–2638.
<https://doi.org/10.3168/jds.2009-2929>.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 El ecosistema ruminal y el rumiante

Los rumiantes han evolucionado para alimentarse principalmente de forrajes, pero debido al desarrollo de múltiples sistemas de producción, actualmente estos animales están siendo adaptados al consumo de dietas con mayor contenido de granos y fuentes diferentes de alimento (Gordon & Prins, 2008), incluso se utilizan subproductos agrícolas e industriales como alimento. La eficiencia de los rumiantes para utilizar una variedad tan amplia de alimentos se debe al conjunto de enzimas propias de los microorganismos del ecosistema ruminal, altamente diversificado y compuesto de cientos de especies de bacterias (10^{10} - 10^{11} células/ml), protozoos ciliados (10^4 - 10^6 /ml), hongos anaeróbicos (10^3 - 10^5 zoosporas/ml) y bacteriófagos (10^8 - 10^9 /ml) (Bastida-García, González-Ronquillo, Domínguez-Vara, Romero-Bernal, & Castelán-Ortega, 2011; Kamra, 2005). Ningún mamífero produce celulasas, hemicelulolasas, pectinasas o ligninasas; sin embargo, en los rumiantes las enzimas de este tipo que se hallan en el rumen, son de origen microbiano: bacterias, hongos y protozoarios (Russell & Rychlik, 2001).

El rumiante provee el hábitat para el crecimiento de microorganismos anaeróbicos cuyos productos de su metabolismo (proteína microbiana, vitaminas y ácidos grasos volátiles) sirven de nutrimentos para el rumiante (Russell & Rychlik, 2001). El ecosistema microbiano del rumen es relativamente estable cuando alcanza su clímax, los microorganismos que lo colonizan están adaptados al conjunto de factores físicos, químicos y biológicos prevalentes, los cuales son restrictivos para muchos microorganismos que llegan al rumen, junto con el alimento y el agua que ingieren. Las principales condiciones ambientales que limitan el desarrollo de microorganismos contaminantes son la anaerobiosis, la variación de pH post-alimentación, la presión osmótica y la fuerte competencia entre los microorganismos para su supervivencia (Kamra, 2005).

A la vez, el ecosistema ruminal es dinámico, puesto que la especie animal, condiciones ambientales, región o hábitat del rumiante, composición del alimento, manejo alimenticio, sistema de producción y comportamiento animal, determinan las condiciones del ecosistema ruminal e inducen la fluctuación y sucesión de las poblaciones microbianas (Guo, Guo, Zhu, Guo, & Zhou, 2019).

Debido a que la respuesta productiva del rumiante está fuertemente relacionada con el valor nutritivo del alimento que consume, y la actividad metabólica de los microsimbiontes ruminales (Posada & Noguera, 2005). La formulación de dietas por los nutriólogos considera los requerimientos microbianos para lograr la mayor eficiencia en la conversión del alimento a AGV (mM L^{-1}) y biomasa microbiana (mg g^{-1} MOD), como fuentes de energía y proteína microbiana disponibles para el rumiante, y también los requerimientos de nutrientes del propio rumiante (Mcgrath et al., 2018).

Los nutrientes mayores que son balanceados en una dieta son la proteína y energía, lo cual se hace de acuerdo con las condiciones de manejo y la respuesta productiva esperada (Hristov et al., 2019). Una parte de la energía del alimento que consume el rumiante, es no digerible o utilizada por el animal. En consecuencia, se prefiere balancear las dietas en función a la energía metabolizable (EM, Mkal kg^{-1} MS). Durante la fermentación ruminal del alimento, se producen pérdidas energéticas inevitables en forma de calor y gases (CO_2 , CH_4 , H_2). En las últimas décadas ha renacido el interés por reducir las emisiones de metano, con el fin de mejorar la eficiencia energética en los rumiantes y reducir el impacto ambiental.

2.2 Eficiencia energética e impacto ambiental por metano

La metanogénesis es invariablemente, un proceso del metabolismo ruminal, cuyo producto (metano) constituye del 2 al 12% de la energía bruta del alimento que consume el rumiante, y representa una pérdida energética (Beauchemin, Kreuzer, O'Mara, & McAllister, 2008; Johnson & Johnson, 1995). Por otro lado, el metano también es un gas con efecto invernadero fuerte, y su emisión al ambiente por la actividad ganadera impacta en la contaminación ambiental. Se

estima que el 25% de la producción antropogénica de metano, proviene de la ganadería (Eugéne et al., 2019). El metano es el segundo contribuyente más significativo a este efecto, al reflejar a la tierra, veinte veces más calor que el dióxido de carbono. La metanogénesis es una parte importante del metabolismo de la energía en los rumiantes, por tanto la crianza de los mismos es la parte de la ganadería que más contribuye al calentamiento global (Hammond et al., 2016; Hill, McSweeney, Wright, Bishop-Hurley, & Kalantar-zadeh, 2016; Ramin & Huhtanen, 2013).

Esto ha convertido al metano en el protagonista principal en los estudios que intentan disminuir el impacto ambiental de la ganadería (Yan et al., 2010) y mejorar la eficiencia energética de los rumiantes. Son muchos los factores que influyen en las emisiones de metano de los rumiantes e incluyen los siguientes: consumo diario de alimento, composición de la dieta, digestibilidad, uso de aditivos y alteraciones en la microbiota ruminal. La manipulación de estos factores puede reducir la emisión de metano en el ganado (Beauchemin et al., 2008; Johnson & Johnson, 1995).

2.3 Selectividad

La selectividad del rumiante por el alimento que consume es una función dinámica, la cual depende de la interacción de múltiples factores que pueden agruparse en tres categorías: factores del animal, sociales y del hábitat (especie, raza, sexo, peso, estado fisiológico, salud, condicionamiento, tiempos de consumo y experiencias; densidad de animales, jerarquías; estructura de las pasturas, densidad de especies de plantas, acceso al forraje y época del año). Los animales desarrollaron adaptaciones anatómicas, metabólicas y fisiológicas, por la necesidad de seleccionar y cubrir sus requisitos nutrimentales con los alimentos disponibles en el entorno (Tarazona, Ceballos, Naranjo, & Cuartas, 2012).

Los rumiantes pueden aprovechar alimentos altamente fibrosos, en virtud de su asociación con microorganismos que tienen la capacidad de digerir y fermentar los carbohidratos estructurales de la fibra o pared de las células vegetales

(Church, 1993); también están adaptados para asimilar alimentos con cantidades altas de almidón y carbohidratos solubles, similar a los animales no rumiantes (Gordon & Prins, 2008). Dada esta amplitud de opciones y dependiendo de la oferta alimenticia, los rumiantes seleccionan en primer término aquellos alimentos de mayor valor nutricional y posteriormente consumirán otros alimentos de menor valor nutritivo (Soares, García, Ferreira, & Gomes, 2012). Por ejemplo, se ha observado que los bovinos en pastoreo, prefieren los rebrotes de las plantas de mayor valor antes de incluir otras de menor valor nutricional; sin embargo, la palatabilidad del alimento hace que el animal consuma primero los alimentos de mejor sabor (Hussain & Jan, 2009).

La selectividad permite al rumiante regular su consumo de alimento y mantener un balance adecuado de nutrimentos según sus requisitos nutrimentales. Comprender como los animales realizan la selección de los alimentos es esencial para el mejoramiento en el aprovechamiento de recursos (Tarazona et al., 2012) Una dieta compuesta de una variedad de ingredientes, le ofrecerá al animal alternativas para su selectividad y así regular el consumo de alimento.

La selectividad puede afectar el consumo de alimentos, modificando la ingesta de nutrimentos, lo cual a su vez afecta la metanogénesis en los rumiantes. Por tanto, las producciones de gases efecto invernadero de los sistemas extensivos o de pastoreo son más propensos a ser afectados por la selectividad (Bonilla & Lemus, 2012). Sin embargo, en la actualidad los sistemas intensivos formulan y diseñan las dietas para evitar esta selectividad, a través de raciones totalmente mezcladas o concentrados comerciales.

2.4 Técnica de producción de gas *in vitro* como estimador de la producción de metano

Un alimento incubado en líquido ruminal amortiguado se degrada, y la fracción degradada puede fermentarse y producir gases, AGV y biomasa microbiana. La técnica de producción de gas (TPG) determina la extensión y la cinética de degradación del alimento, a través del gas liberado directamente como un producto de la fermentación acética y butírica, principalmente; e indirectamente

de la neutralización de los AGV por el *buffer* usado para diluir el inóculo ruminal (Posada & Noguera, 2005). Cuando el volumen de gas registrado se combina con medidas de degradación, la TPG proporciona una medida de reparto de la proporción de alimento usado para fermentación y la correspondiente usada para biomasa microbiana (Rymer, Huntington, Williams, & Givens, 2005). Los perfiles de producción de gas se han ajustado a modelos matemáticos que describen la cinética de producción de gas, que permiten comparar la calidad fermentativa de los sustratos y el efecto de aditivos; así como obtener la tasa de fermentación de las fracciones solubles y estructurales del alimento (Posada & Noguera, 2005).

Puesto que existen factores que afectan la producción de gas por la TPG, es necesario controlarlos durante su aplicación (Alvarez et al., 2018). Entre los factores principales se encuentran los siguientes: a) la acumulación de la presión del gas en el interior del frasco, ya que si es demasiado alta, aumenta la solubilidad del gas en el inóculo y resulta un valor de volumen de gas subestimado (Rymer et al., 2005); b) la especie animal donadora de inóculo, aunque en algunos estudios no han hallado diferencias entre inóculos provenientes de animales de sexo y edad diferentes, en comparación con el proveniente de animales de la misma especie (Fuente, Belanche, & Fondevila, 2009); c) la hora del día en que se toma la muestra; d) la dieta del animal donador; e) la cantidad de sustrato a fermentar, pues los sistemas que usan una cantidad muy pequeña de sustrato son propensos a errores experimentales, desde el pesado de la muestra (Rymer et al., 2005).

La TPG, además de evaluar el valor fermentativo de los alimentos para rumiantes, también se ha usado para medir la producción de CH₄ (Yáñez et al., 2016) y tiene la ventaja de que pueden incubarse y analizar a la vez un número alto de muestras (Danielsson et al., 2017; Ramin & Huhtanen, 2012). Por otro lado, para cuantificar la emisión de metano, son más confiables los métodos *in vivo*, tales como: el uso de cámaras de respiración, el trazado de hexafluoruro de azufre (SF₆), técnicas micrometeorológicas, y a través del espectro de

infrarrojo o con láser para mediciones a corto plazo. La diversidad de técnicas y métodos para estimar la emisión ruminal de metano, indica *per se* que no hay uno ideal (Hammond et al., 2016; Rodríguez et al., 2019). Los procedimientos *in vivo* son costosos, a pesar de tener la ventaja de ser evaluaciones más reales que las *in vitro*, por incluir el factor animal y de manejo. Por su parte, las técnicas *in vitro* son menos laboriosas y de menor costo, pero no consideran el efecto animal (Danielsson et al., 2017). Independientemente de la técnica usada, la investigación enfocada a evaluar la producción de metano es útil para buscar estrategias de mitigación de la emisión de metano, y para reducir el impacto ambiental y mejorar la eficiencia de utilización de la energía por el ganado (Johnson & Johnson, 1995), lo cual es una preocupación y un desafío actual para la ganadería (Castelán-Ortega, Ku-Vera, & Estrada-Flores, 2014).

Existe evidencia de que es factible aplicar la TPG en estudios *in vivo* para estimar la asimilación de dietas con diferentes niveles de energía y proteína, Chávez y Martínez (2014) propusieron usar la diferencia entre el volumen máximo de gas producido por el alimento y el producido por las heces. Vazquez (2016) también uso el volumen máximo para comparar la asimilación de cuatro dietas de corderos basadas en ensilado de nopal y de maíz.

Además, las mediciones de producción de gas *in vitro* se pueden utilizar con éxito para estimar los parámetros cinéticos de la producción de metano, y en consecuencia, para predecir la producción este gas (Ramin & Huhtanen, 2012).

2.5 Bibliografía

Alvarez, H. P. S., Giraldo, S. P. A., Williams, O. R. S., Jacobs, L. J., Hannah, C. M., Moate, J. P., & Eckard, J. R. (2018). The use of total gas collection for measuring methane production in vented *in vitro* systems. *The Professional Animal Scientist*, 34(4), 390–396.

Bastida G. J. L., González-Ronquillo. M., Domínguez V. I. A., Romero-Bernal. J., & Castelán O. O. (2011). Effect of field pea (*Pisum sativum* L.) level on intake, digestion, ruminal fermentation and *in vitro* gas production in sheep fed maintenance diets. *Animal Science Journal*, 82(5), 654–662. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2011.00884.x>

- Beauchemin, K. A., Kreuzer, M., O'Mara, F., & McAllister, T. A. (2008). Nutritional management for enteric methane abatement: A review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48(2), 21–27. <https://doi.org/10.1071/ea07199>
- Bonilla, C. J. A., & Lemus, F. C. (2012). Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencia Pecuarias*, 3(2), 215–246.
- Castelán-Ortega, O. A., Ku-Vera, J. C., & Estrada-Flores, J. G. (2014). Modeling methane emissions and methane inventories for cattle production systems in Mexico. *Atmósfera*, 27(2), 185–191. [https://doi.org/10.1016/S0187-6236\(14\)71109-9](https://doi.org/10.1016/S0187-6236(14)71109-9)
- Chávez, H. G., & Martínez, M. L. (2014). Producción de gas *in vitro* como método para determinar la asimilación de dietas por corderos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo.
- Church, D. C. (1993). *El Rumiante: Fisiología Digestiva y Nutrición de los Rumiantes* (Segunda ed.). Editorial Acriba. Zaragoza, España.
- Danielsson, R., Ramin, M., Bertilsson, J., Lund, P., & Huhtanen, P. (2017). Evaluation of a gas *in vitro* system for predicting methane production *in vivo*. *Journal of Dairy Science*, 100(11), 8881–8894. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12675>
- Eugène, M., Sauvant, D., Noziere, P., Viallard, D., Oueslati, K., Lherm, M., & Doreau, M. (2019). A new Tier 3 method to calculate methane emission inventory for ruminants. *Journal of Environmental Management*, 231, 982–988.
- Fuente, G., Belanche, A., & Fondevila, M. (2009). Estudio *in vitro* de la fermentación ruminal de carbohidratos en cabra montés. *Archivos de Zootecnia*, 58 (223), 357–362.
- Gordon, I. J., & Prins, H. H. T. (2008). Grazers and Browsers in a Changing World: Conclusions. In: Gordon IJ, Prins HH, editors. *The Ecology of Browsing and Grazing*. Editorial: Springer-Verlag. Berlin Heidelberg: (pp. 309–320). <https://doi.org/10.1007/978-3-540-72422-3>
- Guo, W., Guo, X. J., Zhu, B. C., Guo, Y. Y., & Zhou, X. (2019). *In situ* degradation, ruminal fermentation, and the rumen bacterial community of cattle fed corn stover fermented by lignocellulolytic microorganisms. *Animal Feed Science and Technology*, 248, 10–19.

- Hammond, K. J., Crompton, L. A., Bannink, A., Dijkstra, J., Yáñez, R. D. R., Kiely, P. O., & Reynolds, C. K. (2016). Review of current *in vivo* measurement techniques for quantifying enteric methane emission from ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 219, 13–30.
- Hill, J., McSweeney, C., Wright, A. D. G., Bishop-Hurley, G., & Kalantar-zadeh, K. (2016). Measuring methane production from ruminants. *Trends in Biotechnology*, 34(1), 26–35.
- Hristov, A. N., Bannink, A., Crompton, L. A., Huhtanen, P., Kreuzer, M., Mcgee, M., & Schwarm, A. (2019). Nitrogen in ruminant nutrition: A review of measurement techniques. *Journal Dairy Science*, 102, 5811–5852. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15829>
- Hussain, F., & Jan, D. M. (2009). Seasonal availability, palatability and animal preferences of forage plants in harbor arid range land, Kalat, Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 41(2), 539–554
- Johnson, K. A., & Johnson, D. E. (1995). Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 73, 2483–2492. <https://doi.org/1995.7382483x>
- Kamra, D. N. (2005). Microbial Diversity. Rumen microbial ecosystem. *Current Science*, 89(1), 124–135. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.06.110175.000351>
- Mcgrath, J., Duval, S. M., Tamassia, L. F. M., Kindermann, M., Stemmler, R. T., Gouvea, V. N. De, & Celi, P. (2018). Nutritional strategies in ruminants: A lifetime approach. *Research in Veterinary Science*, 116, 28–39. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.09.011>
- Posada, S. L., & Noguera, R. R. (2005). Técnica *in vitro* de producción de gases: una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *Livestock Research for Rural Development*, 17(4).
- Ramin, M., & Huhtanen, P. (2012). Development of an *in vitro* method for determination of methane production kinetics using a fully automated *in vitro* gas system-A modelling approach. *Animal Feed Science and Technology*, 174(3–4), 190–200. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.03.008>
- Ramin, M., & Huhtanen, P. (2013). Development of equations for predicting methane emissions from ruminants. *Journal of Dairy Science*, 96(4), 2476–2493. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6095>

- Rodríguez, J. C., Paz P., F., Watts, C., Lizárraga C., C., Yépez G., E., Jiménez F., G., Macías V., C. E. (2019). Mediciones de metano y bióxido de carbono usando la técnica de covarianza de vórtices en ganado lechero semiestabulado en Sonora, México. *Terra Latinoamericana*, 37, 69–80. Retrieved from <http://www.terralatinoamericana.org.mx/index.php/terra/article/view/412>
- Russell, J. B., & Rychlik, J. L. (2001). Factors that alter rumen microbial ecology. *Science*, 292(5519), 1119–1122. <https://doi.org/10.1126/science.1058830>
- Rymer, C., Huntington, J. A., Williams, B. A., & Givens, D. I. (2005). *In vitro* cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. *Animal Feed Science and Technology*, 123–124, 9–30. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.055>
- Soares, A. C. M., García, R., Ferreira, V. J., & Gomes, P. O. (2012). Productivity, utilization efficiency and sward targets for mixed pastures of marandugrass, forage peanut and tropical kudzu. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(3), 512–520.
- Tarazona, A. M., Ceballos, M. C., Naranjo, J. F., & Cuartas, C. A. (2012). Factors affecting forage intake and selectivity in ruminants. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25, 473–487.
- Vazquez, M. P. (2016). Aprovechamiento de nopal y tuna en la alimentación de ovinos. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo.
- Yan, T., Mayne, C. S., Gordon, F. G., Porter, M. G., Agnew, R. E., Patterson, D. C., & Kilpatrick, D. J. (2010). Mitigation of enteric methane emissions through improving efficiency of energy utilization and productivity in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93(6), 2630–2638. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2929>
- Yáñez, R. D. R., Bannink, A., Dijkstra, J., Kebreab, E., Morgavi, D. P., O'kiely, P., & Hristov, A. N. (2016). Design, implementation and interpretation of *in vitro* batch culture experiments to assess enteric methane mitigation in ruminants: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 216, 1–18.

3 INDICADOR DE CALENTAMIENTO GLOBAL A PARTIR DE LA FERMENTACIÓN RUMINAL DE ALIMENTOS CON DIFERENTES NIVELES DE ENERGÍA Y PROTEÍNA

Brayan Eduardo Martínez-Hernández¹, Omar Salvador-Flores², Luis Alberto
Miranda-Romero¹

¹Posgrado en Producción Animal, Departamento de Zootecnia, Universidad
Autónoma Chapingo, km 38 Carretera México-Texcoco, Chapingo, Estado de
México CP 56230.

²Departamento de Ciencias Pecuarias, Facultad de Estudios Superiores
Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Campo Cuatro. Km 2.5
carretera Cuautitlán-Teoloyucan, Cuautitlán Izcalli.

Publicado en la Revista *Pastos y Forrajes*.

Indicador de calentamiento global a partir de la fermentación ruminal de alimentos con diferentes niveles de energía y proteína[▲]**Global warming indicator from rumen fermentation of feedstuffs with different energy and protein levels[▲]**

Brayan Eduardo Martínez-Hernández¹ <https://orcid.org/0000-0003-1995-0973>, Omar Salvador-Flores² <https://orcid.org/0000-0001-5954-2216> y Luis Alberto Miranda-Romero¹ <https://orcid.org/0000-0003-0342-7897>

¹Posgrado en Producción Animal, Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Km. 38.5 Carretera México – Texcoco, Chapingo, Estado de México CP 56230. ²Departamento de Ciencias Pecuarias, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México Campo Cuatro, Km 2.5 Carretera Cuautitlán-Teoloyucan, Col. San Sebastián Xhala, Cuautitlán Izcalli.

*Correspondencia: braedma@gmail.com

Resumen

Objetivo: Evaluar la técnica de producción de gas *in vitro* como método para estimar *in vivo* un indicador de calentamiento global, en dietas con diferentes niveles de energía metabolizable y proteína bruta.

Materiales y Métodos: Se usó la técnica de producción de gas *in vitro* para obtener un indicador de calentamiento global a partir de la producción de CO₂ y CH₄, la emisión potencial de gases de fermentación y la digestibilidad de cinco dietas: tres dietas balanceadas a niveles bajo (2,7:12,8); medio (2,7:15,3) y alto (3,0:17,6); y dos desbalanceadas en energía metabolizable y proteína bruta, con las cuales se alimentó a 30 corderos (26,5 ± 3,7 kg PV) en corraletas individuales. La engorda duró 60 días (tres periodos de 20 días). En cada periodo se tomaron muestras del alimento ofrecido, el rechazado y heces por animal, las cuales fueron fermentadas con la TPG durante 24 h. El diseño fue completamente al azar con arreglo factorial 5 x 3 (dieta x periodo).

Resultados: La digestibilidad *in vitro* de la materia seca y la fermentación ruminal *in vitro* fueron 6 y 13 % mayores para las dietas balanceadas en comparación con las desbalanceadas, respectivamente. En cuanto a la producción de CH₄ y el indicador potencial de calentamiento global, se observó una mayor producción en el tercer periodo de la engorda respecto a los primeros 40 días. Además, las raciones altas en energía metabolizable fueron las de mayor impacto ambiental en el calentamiento global ($p < 0,05$).

Conclusiones: El indicador potencial de calentamiento global obtenido con la técnica de producción de gas es útil para estimar el impacto ambiental de las dietas para rumiantes; y las dietas balanceadas, independientemente del nivel de energía y proteína, tuvieron una mayor digestibilidad y fermentación.

Palabras clave: cordero, fermentación, impacto ambiental

Abstract

Objective: To evaluate the *in vitro* gas production technique as method to estimate *in vivo* a global warming indicator, in diets with different levels of metabolizable energy and crude protein.

Materials and Methods: The *in vitro* gas production technique was used to obtain a global warming indicator from CO₂ and CH₄ production, the potential emission of fermentation gases and digestibility of five diets: three balanced diets at low (2,7:12,8); medium (2,7:15,3) and high levels (3,0:17,6) and two unbalanced diets in metabolizable energy and crude protein, with which 30 lambs (26,5 ± 3,7 kg LW) were fed in individual pens. Fattening lasted 60 days (three periods of 20 days). In each period samples of the offered and rejected feedstuff, and feces were taken per animal, which were fermented with the GPT during 24 h. The design was complete randomized with 5 x 3 factorial arrangement (diet x period).

Results: The *in vitro* dry matter digestibility and *in vitro* ruminal fermentation were 6 and 13 % higher for the balanced diets compared with the unbalanced ones, respectively. Regarding CH₄ production and the global warming potential indicator, higher production was observed in the third period of fattening with regards to the first 40 days. In addition, the diets high in metabolizable energy were the ones with higher environmental impact on global warming ($p < 0,05$).

Conclusions: The global warming potential indicator obtained with the gas production technique is useful to estimate the environmental impact of the diets for ruminants; and the balanced diets, independently from the energy and protein level, they had higher digestibility and fermentation.

Keywords: lamb, fermentation, environmental impact

[▲] Trabajo presentado en la V Convención Internacional Agrodesarrollo 2019 celebrada del 22 al 26 de octubre del 2019. Centro de Convenciones Plaza América. Varadero, Cuba.

[▲] Paper presented in the 5th International Convention Agrodesarrollo 2019 celebrated on October 22-26, 2019. Plaza America Convention Center. Varadero, Cuba.

Recibido: 07 de agosto de 2019

Aceptado: 12 de septiembre de 2019

Como citar este artículo: Martínez-Hernández, B. E.; Salvador-Flores, O. & Miranda-Romero, L. A. Indicador de calentamiento global a partir de la fermentación ruminal de alimentos con diferentes niveles de energía y proteína. *Pastos y Forrajes*. 42 (4):285-289, 2019

Este es un artículo de acceso abierto distribuido en Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/> El uso, distribución o reproducción está permitido citando la fuente original y autores.

Introducción

Los rumiantes contribuyen al calentamiento global al generar productos de la fermentación anaeróbica de carbohidratos, tales como calor, dióxido de carbono (CO₂) y metano (CH₄), según señalan Castelán-Ortega *et al.* (2014). Este último representa una pérdida del 10 % de la energía contenida en el alimento (Carmona *et al.*, 2005), y es el segundo contribuyente más significativo al efecto invernadero, al atrapar veinte veces más calor que el dióxido de carbono (Yan *et al.*, 2010). Además, se calcula que aproximadamente una cuarta parte de todo el CH₄ antropogénico se produce por fermentación entérica de los rumiantes (Beauchemin *et al.*, 2008; Ramin y Huhtanen, 2013).

La estimación de las emisiones de gases de efecto invernadero, principalmente CH₄, por métodos *in vivo* es considerada más exacta, y entre estos destacan la cámara de respiración, el trazador SF₆ y las técnicas micrometeorológicas (Rodríguez *et al.*, 2019). Sin embargo, estas técnicas son costosas y laboriosas; y, en menor o mayor grado, afectan el comportamiento animal. Por su parte, las técnicas *in vitro* son de bajo costo (Danielsson *et al.*, 2017), prácticas, poco contaminantes, y se pueden usar para estimar los parámetros de la cinética de producción de gas y predecir la producción de metano (Ramin y Huhtanen, 2012).

La técnica de producción de gas *in vitro* (TPG) genera gas proveniente directa y principalmente, pero no exclusivamente, de la fermentación ruminal de los carbohidratos del alimento; por tanto, el gas puede ser un indicador del contenido de energía (Menke y Steingass, 1988; Posada y Noguera, 2005). Algunos trabajos de investigación han evidenciado la factibilidad de aplicar la TPG en estudios *in vivo*, con el fin de determinar el efecto de la dieta en la emisión potencial de gases (Miranda-Romero *et al.*, 2018). Debido a lo anterior, existe el interés de evaluar la producción potencial de metano en función del contenido de energía y proteína del alimento; por lo que el objetivo de la investigación fue evaluar la técnica de producción de gas *in vitro* como método para estimar *in vivo* un indicador de calentamiento global, en dietas con diferentes niveles de energía metabolizable y proteína cruda.

Materiales y Métodos

Localización del estudio. El trabajo se llevó a cabo en dos fases: la primera consistió en la engorda

de 30 corderos durante 60 días y la toma de muestras del alimento ofrecido, y tuvo lugar en la Unidad de Posgrado e Investigación de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México –localizada en Cuautitlán Izcalli, Estado de México–. El área está situada a una latitud de 19,695826 norte y longitud de 99,190613 oeste; el clima es templado. La precipitación media anual es de 653 mm y la temperatura promedio es de 15,7 °C (INAFED). La segunda fase se llevó a cabo en el laboratorio de nutrición de rumiantes del Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicada en el kilómetro 38,5 de la carretera México- Texcoco, Chapingo, Estado de México; y consistió en la fermentación por duplicado de las 90 muestras de alimento ofrecido, mediante la técnica de producción de gas *in vitro* a 24 h de la incubación.

Tratamiento y diseño experimental. Con un diseño completamente al azar con cinco tratamientos y seis repeticiones, se formularon cinco dietas con diferentes niveles de energía metabolizable (Mcal/kg) y proteína cruda (%). Para el grupo testigo (MM) se utilizaron los niveles de energía metabolizable (2,8 Mcal/kg) y proteína cruda (16 %) que recomienda el NRC (2007) para ovinos en crecimiento y finalización. Para los grupos experimentales se usaron dos niveles de energía metabolizable, uno superior (3,0 Mcal/kg) y otro inferior (2,7 Mcal/kg) con respecto a las recomendaciones del NRC (2007). De igual manera se utilizaron dos niveles de proteína bruta: superior (18 % PB) e inferior (14 % PB). Con las combinaciones se obtuvieron los siguientes tratamientos (Mcal/kg:% PB): AA (3:18), AB (3:14), BA (2,7:18) y BB (2,7:14). Las cuatro combinaciones se muestran en la figura 1.

Animales y manejo. Treinta corderos machos (26,5 ± 3,7 kg PV) instalados en corraletas individuales de 1 m² fueron alimentados con las dietas, las cuales fueron asignadas aleatoriamente. Los corderos tuvieron un periodo de adaptación de 10 días. La engorda duró 60 días y fue dividida en tres periodos de 20 días cada uno. En cada periodo se tomaron cada tercer día muestras del alimento ofrecido, con las que se conformaron muestras compuestas por animal y por periodo. Las 90 muestras fueron secadas, molidas y fermentadas por la técnica de producción de gas modificada (Getachew *et al.*, 1998), para medir la producción de gas total (mL g⁻¹) y para estimar la producción de CO₂, CH₄ más gases

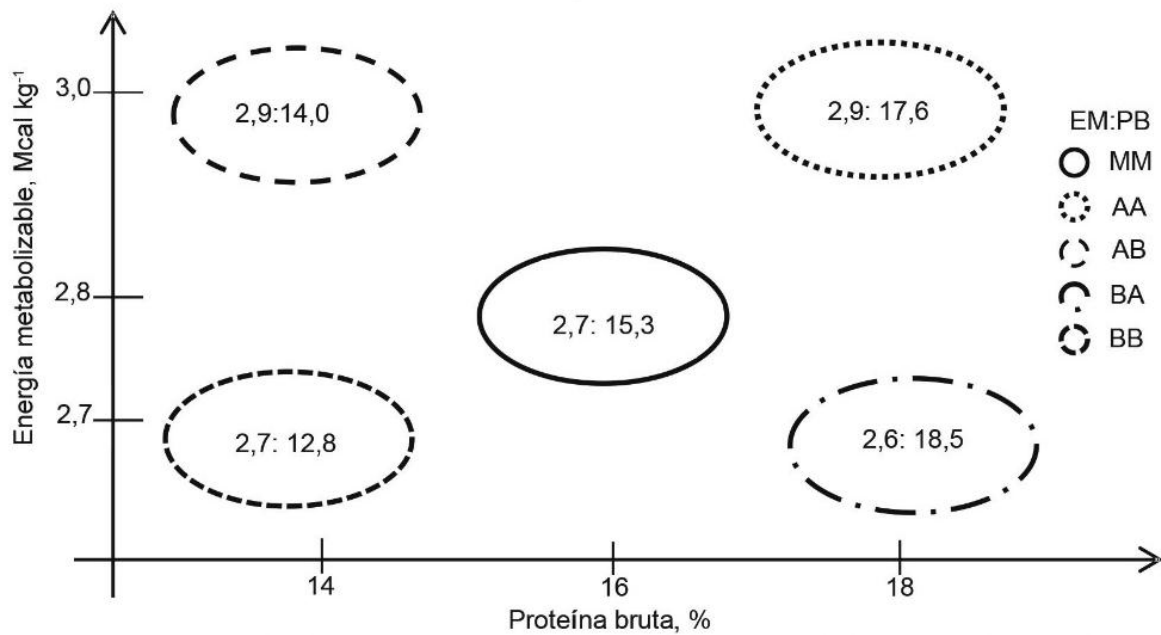


Figura 1. Energía metabolizable (EM) y proteína bruta (PB) en dietas con nivel alto (A), medio (M) o bajo (B). MM: dieta de referencia recomendada por la NRC (2007) para ovinos que ganan 250 g/días. Valores dentro de los óvalos corresponden al nivel de EM y PB para cada dieta.

menores (CH₄+GM) y la digestibilidad *in vitro* (DIVMS) a las 24 h de la incubación.

La producción total de gas fue referida como índice de emisión potencial de gases de fermentación (IEPGM, mL g⁻¹). Los valores de CH₄+GM fueron ajustados como metano teórico (CH₄) multiplicando cada valor por 0,77 (Zhong *et al.*, 2016). Con los valores de CO₂ y CH₄ se obtuvo el indicador potencial de calentamiento global (IPCG), considerando un valor equivalente por metano de 23 (Berra *et al.*, 2009) y la siguiente ecuación:

$$IPCG(\text{mL CO}_2\text{ eq g}^{-1}\text{ MS}) = \text{CO}_2(\text{mL g}^{-1}) + \text{CH}_4(\text{mL g}^{-1}) \times 23$$

El análisis estadístico se realizó con el procedimiento GLM y la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey (SAS 9.4).

Resultados y Discusión

De acuerdo con el IEPGF, la dieta desbalanceada AB se fermentó menos que las dietas balanceadas (AA, BB y MM) en los dos primeros periodos de la engorda, y tendió a ser de las menos fermentables en el tercer periodo junto con la dieta balanceada AA (tabla 1). Este resultado es congruente con la DIVMS, pues se observó que las dietas balanceadas a nivel bajo, medio o alto de EM y PC (BB, MM y AA) tuvieron una mayor digestibilidad ($p < 0,05$) que las desbalanceadas (AB y BA). La digestibilidad promedio fue alta en los primeros dos periodos. Sin embargo, como se trataba de animales adultos no

hubo diferencia ($p > 0,05$) en la digestibilidad, lo que coincide con lo descrito por Bastida-García *et al.* (2011).

La producción de metano promedio de los tres periodos fue inferior al 16 %, lo cual se corresponde con dietas altas en concentrado; a su vez, el valor fue menor que en dietas altas en forraje (> 20 %), según señalan Dumortier *et al.* (2017).

Es notorio que la producción de metano fuera mayor para el último periodo de la engorda (41-60 días). Por otra parte, se observó que las dietas con baja energía (BB y BA) produjeron menos metano ($p < 0,05$); mientras que la dieta con alta energía y proteína (AA) produjo una mayor cantidad ($p < 0,05$) de metano (tabla 1).

Por su parte, la fermentación ruminal *in vitro* de las dietas demostró que, con un mayor contenido de EM (AA y AB), el IPCG tuvo un valor superior ($p < 0,05$) y, por ende, estas fueron las de mayor impacto ambiental respecto al calentamiento global, principalmente en los dos primeros periodos de engorda. En el último periodo, la dieta con niveles medios de EM y PC (MM) también tuvo un IPCG alto ($p < 0,05$). En contraste, el IPCG fue menor ($p < 0,05$) con la fermentación de las dietas con nivel bajo de EM (tabla 1).

Estos resultados indican que, independientemente del nivel de EM y PB, la fermentación ruminal del alimento se optimiza cuando estos nu-

Tabla 1. Producción de gas de fermentación *in vitro* e indicador potencial de calentamiento global de dietas con diferentes niveles de energía y proteína.

Periodo, días	Tratamiento, EM:PB	CH ₄ , %	IEPGF _{24h} , mL g ⁻¹	IPCG, mL CO ₂ eq g ⁻¹ cordero ⁻¹	DIVMS, %
0-20	BB	0,1 ^b	206,9 ^a	219,9 ^c	71,6 ^{ab}
	MM	5,6 ^a	195,7 ^a	400,1 ^b	74,1 ^a
	AA	9,4 ^a	182,0 ^a	552,7 ^a	75,0 ^a
	BA	7,8 ^a	131,4 ^b	344,3 ^{bc}	62,1 ^b
	AB	9,9 ^a	195,0 ^a	610,0 ^a	68,4 ^{ab}
21-40	BB	4,2 ^{ab}	171,3 ^a	330,0 ^a	73,4 ^{ab}
	MM	1,7 ^b	172,1 ^a	239,5 ^{ab}	72,6 ^{ab}
	AA	4,7 ^a	193,9 ^a	390,4 ^a	80,3 ^a
	BA	2,3 ^{ab}	91,6 ^b	138,1 ^b	68,0 ^b
	AB	4,0 ^{ab}	198,0 ^a	369,2 ^a	77,5 ^{ab}
41-60	BB	5,4 ^c	194,2 ^{ab}	421,2 ^c	75,3
	MM	16,4 ^{ab}	206,5 ^a	941,9 ^a	77,1
	AA	16,6 ^a	183,0 ^b	842,1 ^{ab}	74,1
	BA	12,4 ^b	190,6 ^{ab}	695,1 ^b	75,3
	AB	15,6 ^{ab}	189,0 ^b	825,3 ^{ab}	73,8

EM: energía metabolizable (Mcal kg⁻¹), PB: proteína bruta (% kg⁻¹), CH₄: metano, IEPGF_{24h}: índice de emisión potencial de gases de fermentación, IPCG: índice potencial de calentamiento global, DIVMS: digestibilidad *in vitro*

a, b, c: letras desiguales dentro de columnas son diferentes para p < 0,05

trimentos están balanceados (BB, MM y AA); lo cual, por consecuencia, incrementaría la producción de AGV y la energía disponible para el rumiante (Popa *et al.*, 2016).

Por otro lado, cuando la dieta está desbalanceada en EM y PC, la fermentación ruminal del alimento es menor; y, por consiguiente, la producción de AGV también se reduce, particularmente cuando hay exceso de EM (AB). Los resultados también indicaron que el nivel de EM en la dieta es más determinante que el nivel de PC en el impacto ambiental; puesto que las dietas AA y AB mostraron mayores IPCG y, en promedio de los tres periodos, tuvieron 31 % más de IPCG que las dietas BB, MM y BA.

Conclusión

El indicador potencial de calentamiento global obtenido por la técnica de producción de gas *in vitro* es útil para estimar el impacto ambiental por la fermentación de los alimentos para rumiantes. En esta investigación se demostró que el IPCG estuvo determinado por el nivel de EM en la dieta. Por otro lado, se confirmó que las dietas balanceadas, independientemente de su nivel de EM y PC, se fermentaron mejor que las desbalanceadas; y, por consiguiente, se espera una mayor disponibilidad

de energía proveniente de AGV para el rumiante. Ello tiene implicaciones para la producción de corderos, ya que los productores de bajos recursos deben considerar, antes de incluir ingredientes energéticos o proteicos, que es mejor balancear la dieta a niveles bajos de EM y PC para mejorar la fermentación ruminal y, probablemente, el comportamiento productivo de los corderos.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), la Universidad Autónoma Chapingo a través de la Dirección General de Investigación y Posgrado, y el Posgrado en Producción Animal.

Contribución de los autores

- Brayan Eduardo Martínez-Hernández. Conceptualización, curación de datos, análisis formal, adquisición de financiamiento, investigación, administración del proyecto, visualización, redacción del borrador original, revisión y edición.
- Omar Salvador-Flores. Conceptualización, adquisición de financiamiento, metodología, recursos, administración del proyecto, redacción, revisión y edición.

- Luis Alberto Miranda-Romero. Conceptualización, curación de datos, análisis formal, adquisición de financiamiento, metodología, administración del proyecto, recursos, supervisión, visualización, redacción del borrador original, revisión y edición.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Referencias bibliográficas

- Bastida-García, J. L.; González-Ronquillo, M.; Domínguez-Vara, I. A.; Romero-Bernal, J. & Castelán-Ortega, O. Effect of field pea (*Pisum sativum* L.) level on intake, digestion, ruminal fermentation and *in vitro* gas production in sheep fed maintenance diets. *Anim. Sci.* 82 (5):654-662, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2011.00884.x>.
- Beauchemin, K. A.; Kreuzer, M.; O'Mara, F. & McAllister, T. A. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Aust. J. Exp. Agr.* 48 (2):21-27, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1071/ea07199>.
- Berra, G.; Finster, L. & Valtorta, S. E. Una técnica sencilla para la medición de emisiones de metano entérico en vaca. *Revista FAVE-Ciencias Veterinarias.* 8 (1):49-56, 2009. DOI: <https://doi.org/10.14409/favecv.v8i1.1479>.
- Carmona, J. C.; Bolívar, Diana M. & Giraldo, L. A. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 18 (1):49-63, 2005.
- Castelán-Ortega, O. A.; Ku-Vera, J. C. & Estrada-Flores, J. G. Modeling methane emissions and methane inventories for cattle production systems in Mexico. *Atmósfera.* 27 (2):185-191, 2014.
- Danielsson, R.; Ramin, M.; Bertilsson, J.; Lund, P. & Huhtanen, P. Evaluation of a gas *in vitro* system for predicting methane production *in vivo*. *J. Dairy Sci.* 100 (11):8881-8894, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12675>.
- Dumortier, P.; Aubinet, M.; Beckers, Y.; Chopin, H.; Debacq, A.; Gourlez-de-la-Motte, L. *et al.* Methane balance of an intensively grazed pasture and estimation of the enteric methane emissions from cattle. *Agric. For. Meteorol.* 232:527-535, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agrfor.2016.09.010>.
- Getachew, G.; Blümmel, M.; Makkar, H. P. S. & Becker, K. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 72 (3-4):261-281, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(97\)00189-2](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)00189-2).
- Menke, K. H. & Steingass, H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28:7-55, 1988.
- Miranda-Romero, L. A.; Vazquez-Mendoza, Paulina; Burgueño-Ferreira, J. A. & Aranda-Orsorio, G. Nutritive value of cactus pear silages for finishing lambs. *J. Prof. Assoc. Cactus Dev.* 20:196-215, 2018.
- Popa, D.; Popa, R.; Vidu, L. & Nicolae, C. Emission of methane from enteric fermentation of cattle and buffaloes in Romania between 1989-2014. *Agric. Agric. Sci. Procedia.* 10:289-298, 2016 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.09.066>.
- Posada, S. L. & Noguera, R. R. Técnica *in vitro* de producción de gases: una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *LRRD.* 17 (4). <http://www.lrrd.org/lrrd17/4/posa17036.htm>, 2005.
- Ramin, M. & Huhtanen, P. Development of an *in vitro* method for determination of methane production kinetics using a fully automated *in vitro* gas system-A modelling approach. *Anim. Feed Sci. Technol.* 174 (3-4):190-200, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.03.008>.
- Ramin, M. & Huhtanen, P. Development of equations for predicting methane emissions from ruminants. *J. Dairy Sci.* 96 (4):2476-2493, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6095>.
- Rodríguez, J. C.; Pellat, F.; Watts, C.; Lizárraga-Celaya, C.; Yépez-González, G.; Jiménez-Ferrer, G. *et al.* Mediciones de metano y bióxido de carbono usando la técnica de covarianza de vórtices en ganado lechero semiestabulado en Sonora, México. *Terra Latinoamericana.* 37:69-80, 2019. DOI: <https://doi.org/10.28940/tl.v37i1.412>.
- Yan, T.; Mayne, C. S.; Gordon, F. G.; Porter, M. G.; Agnew, R. E.; Patterson, D. C. *et al.* Mitigación de las emisiones entéricas de metano a través de la mejora de la eficiencia de la utilización de la energía y la productividad en vacas lecheras lactantes. *J. Dairy Sci.* 93 (6):2630-2638, 2010. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2929>.
- Zhong, R. Z.; Fang, Y.; Sun, H. X.; Wang, M. & Zhou, D. W. Rumen methane output and fermentation characteristics of gramineous forage and leguminous forage at differing harvest dates determined using an *in vitro* gas production technique. *J. Integr. Agr.* 15 (2):414-423, 2016. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(15\)61036-X](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61036-X).

Global warming indicator from rumen fermentation of feedstuffs with different energy and protein levels[▲]

Brayan Eduardo Martínez-Hernández¹ <https://orcid.org/0000-0003-1995-0973>, Omar Salvador-Flores² <https://orcid.org/0000-0001-5954-2216> and Luis Alberto Miranda-Romero³ <https://orcid.org/0000-0003-0342-7897>

¹Posgrado en Producción Animal, Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Km. 38.5 Carretera México – Texcoco, Chapingo, Estado de México CP 56230. ²Departamento de Ciencias Pecuarias, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Campo Cuatro, Km 2.5 Carretera Cuautitlán-Teoloyucan, Col. San Sebastián Xhala, Cuautitlán Izcalli.

*E-mail: braedma@gmail.com

Abstract

Objective: To evaluate the *in vitro* gas production technique as method to estimate *in vivo* a global warming indicator, in diets with different levels of metabolizable energy and crude protein.

Materials and Methods: The *in vitro* gas production technique was used to obtain a global warming indicator from CO₂ and CH₄ production, the potential emission of fermentation gases and digestibility of five diets: three balanced diets at low (BB): 2,7:12,8; medium (MM): 2,7:15,3 and high (AA) levels: 3,0:17,6; and two unbalanced diets: BA: 2,6:18,5 and AB: 2,9:14,0 in metabolizable energy (Mcal kg⁻¹) and crude protein (%), with which 30 lambs (26,5 ± 3,7 kg LW) were fed in individual pens. Fattening lasted 60 days (three periods of 20 days). In each period samples of the offered and rejected feedstuff, and feces were taken per animal, which were fermented with the GPT during 24 h. The design was complete randomized with 5 x 3 factorial arrangement (diet x period).

Results: The *in vitro* dry matter digestibility and *in vitro* ruminal fermentation were 6 and 13 % higher for the balanced diets compared with the unbalanced ones, respectively. Regarding CH₄ production and the global warming potential indicator, higher production was observed in the third period of fattening with regards to the first 40 days. In addition, the diets high in metabolizable energy were the ones with higher environmental impact on global warming (p < 0,05).

Conclusions: The global warming potential indicator obtained with the gas production technique is useful to estimate the environmental impact of the diets for ruminants; and the balanced diets, independently from the energy and protein level, they had higher digestibility and fermentation.

Keywords: lamb, fermentation, environmental impact

Introduction

Ruminants contribute to global warming by generating products of the carbohydrate anaerobic fermentation, such as heat, carbon dioxide (CO₂) and methane (CH₄), according to Castelán Ortega *et al.* (2014). The last one represents a 10-% loss of the energy contained in the feedstuff (Carmona *et al.*, 2005), and is the second most significant contributor to greenhouse effect, capturing twenty times more heat than carbon dioxide (Yan *et al.*, 2010). In addition, it is calculated that approximately one fourth of all the anthropogenic CH₄ is produced by enteric fermentation of ruminants (Beauchemin *et al.*, 2008; Ramin and Huhtanen, 2013).

The estimation of greenhouse gas emissions, mainly CH₄, by *in vivo* methods is considered more accurate, and among them the breathing chamber,

SF₆ tracer and micrometeorological techniques stand out (Rodríguez *et al.*, 2019). Nevertheless, these techniques are costly and laborious; and, to a lower or higher extent, affect the animal behavior. On the other hand, *in vitro* techniques are low-cost (Danielsson *et al.*, 2017), little contaminant practices, and can be used to estimate the parameters of the gas production kinetics and predict methane production (Ramin and Huhtanen, 2012).

The *in vitro* gas production technique (GPT) generates gas directly and mainly, but not exclusively, from the ruminal fermentation of the carbohydrates in the feedstuff; thus, gas can be an indicator of the energy content (Menke and Steingass, 1988; Posada and Noguera, 2005). Some research works have proven the feasibility of applying the GPT in *in vivo* studies, in order

[▲]Paper presented in the 5th International Convention Agrodesarrollo 2019 celebrated on October 22-26, 2019. Plaza America Convention Center. Varadero, Cuba

Received: August 07, 2019

Accepted: September 12, 2019

How to cite a paper: Martínez-Hernández, B. E.; Salvador-Flores, O. & Miranda-Romero, L. A. Global warming indicator from rumen fermentation of feedstuffs with different energy and protein levels. *Pastos y Forrajes*. 42 (4):268-272, 2019

This is an open access article distributed in Attribution NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>
The use, distribution or reproduction is allowed citing the original source and authors.

to determine the effect of the diet on potential gas emission (Miranda Romero *et al.*, 2018). Due to the above-explained facts, there is interest in evaluating the potential methane production related to the energy and protein content of the feedstuff; for which the objective of the research was to evaluate the *in vitro* gas production technique as method to estimate *in vivo* a global warming indicator, in diets with different levels of metabolizable energy and crude protein.

Materials and Methods

Study location. The study was conducted in two stages: the first one consisted in fattening 30 lambs during 60 days and the sampling of the offered feedstuff; and took place at the Postgraduate and Research Unit of the Cuautitlán School of Higher Studies of the National Autonomous University of Mexico—located in Cuautitlán Izcalli, Mexico State—The area is located at a latitude of 19,695826 North and longitude of 99,190613 West; the climate is temperate. Mean annual rainfall is 653 mm and average temperature is 15,7 °C (INAFED). The second stage was carried out in the ruminant nutrition laboratory of the Animal Science Department of the Chapingo Autonomous University, located on the kilometer 38,5 of the Mexico-Texcoco road, Chapingo, Mexico State; and consisted in the fermentation in duplicate of the

90 samples of offered feed, through the *in vitro* gas production technique at 24 h of incubation.

Treatment and experimental design. With a complete randomized design with five treatments and six repetitions, five diets were formulated with different levels of metabolizable energy (Mcal/kg) and crude protein. For the control group (MM) the levels of metabolizable energy (2,8 Mcal/kg) and crude protein (16 %) recommended by the NRC (2007) for growing and finishing sheep, were used. For the experimental groups two metabolizable energy levels were used, a higher (3,0 Mcal/kg) and a lower one (2,7 Mcal/kg) with regards to the recommendations made by NRC (2007). Likewise, two crude protein levels were utilized: higher (18 % CP) and lower (14 % CP). With the combinations the following treatments were obtained: (Mcal/kg:% CP): AA (3:18), AB (3:14), BA (2,7:18) and BB (2,7:14). The four combinations are shown in figure 1.

Animals and management. Thirty male lambs ($26,5 \pm 3,7$ kg LW), installed in 1-m² individual pens, were fed with the diets, which were randomly allocated. The lambs had an adaptation period of 10 days. The fattening lasted 60 days and was divided into three periods of 20 days each. In each period every third day samples of the offered feedstuff were taken, with which composite samples per animal and per period were made. The 90 samples were dried, ground and fermented by the modified gas production technique (Getachew *et al.*, 1998),

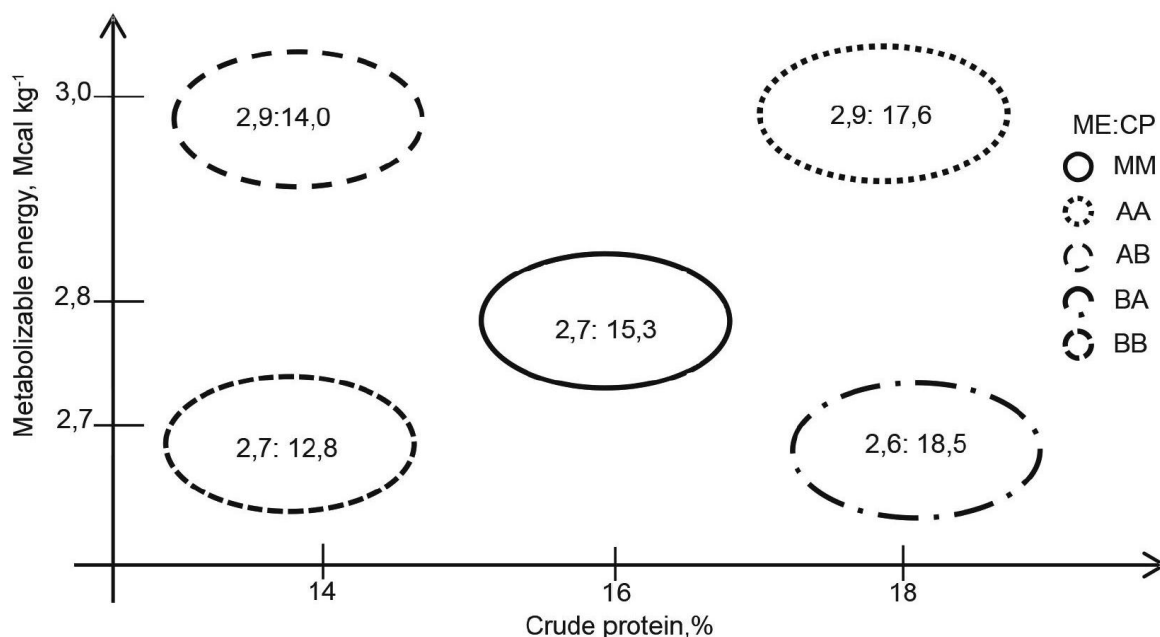


Figure 1. Metabolizable energy (ME) and crude protein (CP) in diets with high (A), medium (M) or low level (B) . MM: reference diet recommended by the NRC (2007) for sheep that gain 250 g/days. Values within the ovals correspond to the ME and CP levels for each diet.

to measure total gas production total (mL g⁻¹) and to estimate the production of CO₂, CH₄ plus minor gases (CH₄+MG) and *in vitro* digestibility (IVDMD) at 24 h of incubation.

The total gas production was referred as index of potential fermentation gas emission (IPFGE, mL g⁻¹). The CH₄+GM values were adjusted as theoretical methane (CH₄) multiplying each value by 0,77 (Zhong *et al.*, 2016). With the CO₂ and CH₄ values the potential global warming indicator (PGWI) was obtained, considering an equivalent value per methane of 23 (Berra *et al.*, 2009) and the following equation:

$$\text{PGWI (mL CO}_2\text{ eq g}^{-1}\text{ DM)} = \text{CO}_2\text{ (mL g}^{-1}\text{)} + \text{CH}_4\text{ (mL g}^{-1}\text{)} \times 23$$

The statistical analysis was carried out with the GLM procedure and Tukey's multiple mean comparison test (SAS 9.4).

Results and Discussion

According to the IPFGE, the unbalanced diet AB was less fermented than the balanced diets (AA, BB and MM) in the first two periods of fattening, and tended to be one of the least fermentable in the third period along with the balanced diet AA

(table 1). This result is congruent with the IVDMD, because it was observed that the balanced diets at low, medium or high ME and CP level (BB, MM and AA) had higher digestibility ($p < 0,05$) than the unbalanced ones (AB y BA). The average digestibility was high in the first two periods. However, as they were adult animals there was no difference ($p > 0,05$) in digestibility, which coincides with the description made by Bastida *et al.* (2011).

Average methane production of the first three periods was lower than 16 %, which is in correspondence with concentrate-high diets; in turn, the value was lower than in forage-high diets (> 20 %), according to Dumortier *et al.* (2017).

It is notorious that the methane production was higher for the last fattening period (41-60 days). On the other hand, the diets with low energy (BB and BA) were observed to produce less methane ($p < 0,05$); while the diet with high energy and protein (AA) produced a higher quantity ($p < 0,05$) of methane (table 1).

On the other hand, *in vitro* ruminal fermentation of the diets showed that, with a higher ME

Table 1. *In vitro* fermentation gas production and potential global warming indicator of diets with different energy and protein levels.

Period, days	Treatment, ME:CP	CH ₄ , %	IPFGE _{24h} , mL g ⁻¹	PGWI, mL CO ₂ eq g ⁻¹ lamb ⁻¹	IVDMD, %
0-20	BB	0,1 ^b	206,9 ^a	219,9 ^c	71,6 ^{ab}
	MM	5,6 ^a	195,7 ^a	400,1 ^b	74,1 ^a
	AA	9,4 ^a	182,0 ^a	552,7 ^a	75,0 ^a
	BA	7,8 ^a	131,4 ^b	344,3 ^{bc}	62,1 ^b
	AB	9,9 ^a	195,0 ^a	610,0 ^a	68,4 ^{ab}
21-40	BB	4,2 ^{ab}	171,3 ^a	330,0 ^a	73,4 ^{ab}
	MM	1,7 ^b	172,1 ^a	239,5 ^{ab}	72,6 ^{ab}
	AA	4,7 ^a	193,9 ^a	390,4 ^a	80,3 ^a
	BA	2,3 ^{ab}	91,6 ^b	138,1 ^b	68,0 ^b
	AB	4,0 ^{ab}	198,0 ^a	369,2 ^a	77,5 ^{ab}
41-60	BB	5,4 ^c	194,2 ^{ab}	421,2 ^c	75,3
	MM	16,4 ^{ab}	206,5 ^a	941,9 ^a	77,1
	AA	16,6 ^a	183,0 ^b	842,1 ^{ab}	74,1
	BA	12,4 ^b	190,6 ^{ab}	695,1 ^b	75,3
	AB	15,6 ^{ab}	189,0 ^b	825,3 ^{ab}	73,8

ME: metabolizable energy (Mcal kg⁻¹), CP: crude protein (% kg⁻¹), CH₄: methane, IPFGE_{24h}: index of potential fermentation gas emission, PGWI: potential global warming index, IVDMD: *in vitro* digestibility

a, b, c: different letters within columns are different for $p < 0,05$

content (AA and AB), the PGWI had a higher value ($p < 0,05$) and, thus, they were the ones with higher environmental impact with regards to global warming, mainly in the first two periods of fattening. In the last period, the diet with medium ME and CP levels (MM) also had a high PGWI ($p < 0,05$). In contrast, the PGWI was lower ($p < 0,05$) with the fermentation of the diets with low ME level (table 1).

These results indicate that, independently from the ME and CP levels, ruminal fermentation of the feedstuff is optimized when these nutrients are balanced (BB, MM and AA); which, consequently, would increase the VFA production and available energy for the ruminant (Popa *et al.*, 2016).

On the other hand, when the diet is unbalanced in ME and CP, the ruminal fermentation of the feedstuff is lower; and, subsequently, the VFA production is also reduced, particularly when there is excess of ME (AB). The results also indicated that the ME level in the diet is more determinant than the CP level in the environmental impact; because the diets AA and AB showed higher PGWIs and, in average of the three periods, had 31 % more of PGWI than the BB, MM and BA diets.

Conclusion

The potential global warming indicator obtained by the *in vitro* gas production technique is useful to estimate the environmental impact by the fermentation of feedstuffs for ruminants. In this research it was proven that the PGWI was determined by the ME level in the diet. On the other hand, it was confirmed that the balanced diets, independently from their ME and CP level, were better fermented than the unbalanced ones; and, subsequently, higher energy availability from VFA for the ruminant is expected. This has implications for lamb production, because low-resource farmers should consider, before including energy or protein ingredients, that it is better to balance the diet at low ME and CP levels to improve ruminal fermentation and, probably, the productive performance of lambs.

Acknowledgements

This work was funded by the National Council of Science and Technology (CONACYT), the Chapingo Autonomous University through the General Postgraduate and Research Direction, and the Postgraduate Studies in Animal Production.

Authors' contribution

- Brayan Eduardo Martínez-Hernández. Conceptualization, data curation, formal analysis,

funding acquisition, research, project administration, visualization, writing of the original draft, revision and edition.

- Omar Salvador-Flores. Conceptualization, funding acquisition, methodology, resources, project administration, writing, revision and edition.
- Luis Alberto Miranda-Romero. Conceptualization, data curation, formal analysis, funding acquisition, methodology, project administration, resources, supervision, visualization, writing of the original draft, revision and edition.

Conflicts of interests

The authors declare that there are no conflicts of interests.

Bibliographic references

- Bastida-García, J. L.; González-Ronquillo, M.; Domínguez-Vara, I. A.; Romero-Bernal, J. & Castelán-Ortega, O. Effect of field pea (*Pisum sativum* L.) level on intake, digestion, ruminal fermentation and *in vitro* gas production in sheep fed maintenance diets. *Anim. Sci.* 82 (5):654-662, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2011.00884.x>.
- Beauchemin, K. A.; Kreuzer, M.; O'Mara, F. & McAllister, T. A. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Aust. J. Exp. Agr.* 48 (2):21-27, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1071/ea07199>.
- Berra, G.; Finster, L. & Valtorta, S. E. Una técnica sencilla para la medición de emisiones de metano entérico en vaca. *Revista FAVE-Ciencias Veterinarias.* 8 (1):49-56, 2009. DOI: <https://doi.org/10.14409/favecv.v8i1.1479>.
- Carmona, J. C.; Bolívar, Diana M. & Giraldo, L. A. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 18 (1):49-63, 2005.
- Castelán-Ortega, O. A.; Ku-Vera, J. C. & Estrada-Flores, J. G. Modeling methane emissions and methane inventories for cattle production systems in Mexico. *Atmósfera.* 27 (2):185-191, 2014.
- Danielsson, R.; Ramin, M.; Bertilsson, J.; Lund, P. & Huhtanen, P. Evaluation of a gas *in vitro* system for predicting methane production *in vivo*. *J. Dairy Sci.* 100 (11):8881-8894, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12675>.
- Dumortier, P.; Aubinet, M.; Beckers, Y.; Chopin, H.; Debacq, A.; Gourlez-de-la-Motte, L. *et al.* Methane balance of an intensively grazed pasture and estimation of the enteric methane emissions from cattle. *Agric. For. Meteorol.* 232:527-535, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agrfor-met.2016.09.010>.

- Getachew, G.; Blümmel, M.; Makkar, H. P. S. & Becker, K. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 72 (3-4):261-281, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(97\)00189-2](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)00189-2).
- Menke, K. H. & Steingass, H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28:7-55, 1988.
- Miranda-Romero, L. A.; Vazquez-Mendoza, Paulina; Burgueño-Ferreira, J. A. & Aranda-Osorio, G. Nutritive value of cactus pear silages for finishing lambs. *J. Prof. Assoc. Cactus Dev.* 20:196-215, 2018.
- Popa, D.; Popa, R.; Vidu, L. & Nicolae, C. Emission of methane from enteric fermentation of cattle and buffaloes in Romania between 1989-2014. *Agric. Sci. Procedia.* 10:289-298, 2016 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.09.066>.
- Posada, S. L. & Noguera, R. R. Técnica *in vitro* de producción de gases : una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *LRRD.* 17 (4). <http://www.lrrd.org/lrrd17/4/posal7036.htm>, 2005.
- Ramin, M. & Huhtanen, P. Development of an *in vitro* method for determination of methane production kinetics using a fully automated *in vitro* gas system-A modelling approach. *Anim. Feed Sci. Technol.* 174 (3-4):190-200, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2012.03.008>.
- Ramin, M. & Huhtanen, P. Development of equations for predicting methane emissions from ruminants. *J. Dairy Sci.* 96 (4):2476-2493, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6095>.
- Rodríguez, J. C.; Pellat, F.; Watts, C.; Lizárraga-Celaya, C.; Yépez-González, G.; Jiménez-Ferrer, G. *et al.* Mediciones de metano y bióxido de carbono usando la técnica de covarianza de vórtices en ganado lechero semiestabulado en Sonora, México. *Terra Latinoamericana.* 37:69-80, 2019. DOI: <https://doi.org/10.28940/tl.v37i1.412>.
- Yan, T.; Mayne, C. S.; Gordon, F. G.; Porter, M. G.; Agnew, R. E.; Patterson, D. C. *et al.* Mitigación de las emisiones entéricas de metano a través de la mejora de la eficiencia de la utilización de la energía y la productividad en vacas lecheras lactantes. *J. Dairy Sci.* 93 (6):2630-2638, 2010. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2929>.
- Zhong, R. Z.; Fang, Y.; Sun, H. X.; Wang, M. & Zhou, D. W. Rumen methane output and fermentation characteristics of gramineous forage and leguminous forage at differing harvest dates determined using an *in vitro* gas production technique. *J. Integr. Agr.* 15 (2):414-423, 2016. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(15\)61036-X](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61036-X).

4 INDICADORES *IN VITRO* DE CALENTAMIENTO GLOBAL, SELECTIVIDAD Y UTILIZACIÓN DE LA DIETA POR OVINOS

4.1 Resumen

Se determinaron indicadores de selectividad animal (ISA), utilización de la fracción fermentable del alimento (IUFA) y del potencial de calentamiento global (IPCG; mL CO₂ eq g⁻¹ MS) *in vivo*, mediante la técnica de producción de gas *in vitro* (TPG). Se formularon cinco dietas: tres balanceadas en energía metabolizable (EM; Mcal kg⁻¹) y proteína cruda (PC; % kg⁻¹), a nivel bajo (BB; 2.7:12.8), medio (MM; 2.7:15.3) y alto (AA; 3:17.6), y dos desbalanceadas (BA; 2.6:18.5 y AB; 2.9:14). Treinta corderos machos (26.5 ± 3.7 kg de peso vivo inicial) fueron asignados al azar equitativamente a una de las dietas y se alimentaron por 60 días. Cada 20 días se determinó la ganancia diaria de peso y el consumo de alimento, y a la vez se tomaron muestras del alimento ofrecido (AO) y rechazado (AR), y de las heces (HE) por animal. Éstas fueron fermentadas *in vitro* por 72 o 24 h de incubación, y se midió el volumen (mL g⁻¹ MS) potencial de gas (V_o), y de bióxido de carbono (V_{CO2}) y metano (V_{CH4}). El ISA e IUFA se calcularon por la diferencia del V_o en el AO – AR, y del AO – HE. El IPCG se estimó por la suma de V_{CO2}+ (V_{CH4}*23), por día o kg de ganancia de peso. El IPCG, IS e IUFA se analizaron por periodos, en un diseño completamente al azar. El IPCG (d⁻¹ o kg⁻¹) fue menor (p < 0.05) con la dieta BB del día 1 al 20 y del 41 al 60, y la dieta MM tuvo el menor IPCG del día 20 al 40, en comparación con las otras dietas. En estos periodos la dieta AB causó el mayor IPCG kg⁻¹. El ISA y IUFA fueron 25 y 32% menores en los corderos alimentados con la dieta BA, en los días 1 al 40, respecto a las otras dietas. Puesto que los indicadores variaron de acuerdo con el tipo de dieta, se considera que pueden ser útiles para estimar el impacto de la dieta en la producción de corderos y en el ambiente.

Palabras clave: fermentación *in vitro*, metano, impacto ambiental, asimilación, corderos.

GLOBAL WARMING, SELECTIVITY AND USE INDICATORS OF DIETS USING GAS PRODUCTION

4.2 Abstract

The *in vivo* indicators of animal selectivity (ISA), use of the fermentable fraction of the food (IUFA) and the global warming potential (IPCG; mL CO₂ eq g⁻¹ MS) were determined using the *in vitro* gas production technique (TPG). Five diets were formulated: three balanced in metabolizable energy (ME; Mcal kg⁻¹) and crude protein (PC;% kg⁻¹), a low level (BB; 2.7:12.8), medium level (MM; 2.7:15.3) and high level (AA; 3:17.6), and two unbalanced (BA; 2.6:18.5 and AB; 2.9:14). Thirty male lambs (26.5 ± 3.7 kg of initial liveweight) were randomized to one of the diets and fed for 60 days. Every 20 days average daily gain and feed consumption were determined, while samples of offered (AO) and rejected (AR) food, and feces (HE) were taken per animal. These were fermented *in vitro* by 72 or 24 h of incubation, and measured the potential volume (mL g⁻¹ MS) of gas (Vo), and of carbon dioxide (V_{CO2}) and methane (V_{CH4}). The IS and IUFA were calculated by subtracting the Vo from the AO in AR and AO in HE. IPCG was estimated by sum of V_{CO2} + (V_{CH4} * 23), per day or kg of weight gain. The IPCG, ISA and IUFA were analyzed by period, in a completely randomized design. The IPCG (d⁻¹ or kg⁻¹) was lower (p < 0.05) in the BB diet from day 1 to 20 and 41 to 60, and the MM diet had the lowest IPCG from day 20 to 40, compared to other diets. In these periods the AB diet caused the highest IPCG kg⁻¹. The ISA and IUFA were 25 and 32% lower in the lambs fed with BA diet, on days 1 to 40, compared to the other diets. Since the indicators varied according to the type of diet, we considered that they can be useful to estimate the impact of the diet on lamb production and on the environment.

Key words: *In vitro* fermentation, methane, environmental impact, assimilation, lambs.

4.3 Introducción

El potencial de calentamiento global (CG) de alimentos para rumiantes, está determinado por la emisión de gases efecto invernadero, principalmente metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂) (González & Carlsson, 2007). El CH₄ es significativamente más contaminante que el CO₂ (Hill, McSweeney, Wright, Bishop-Hurley, & Kalantar-zadeh, 2016), por lo que su impacto en el CG es muy determinante. Las emisiones de CH₄ por actividades humanas se han incrementado a más del doble desde el año 1700. Los rumiantes domésticos son una de las principales fuentes de CH₄ de origen animal, debido a la oxidación incompleta del alimento en su tracto digestivo (Pérez, 2017), y estas emisiones están directamente relacionadas con el nivel de energía en la dieta (Boadi, Benchaar, Chiquette, & Massé, 2004).

Los rumiantes son capaces de aprovechar alimentos fibrosos, adaptación que se generó gracias a la simbiosis con diferentes microorganismos que favorecen la fermentación de forrajes, y surgió por la necesidad de cubrir sus requisitos nutrimentales, en armonía con los alimentos disponibles en el entorno (Tarazona, Ceballos, Naranjo, & Cuartas, 2012). En la actualidad los rumiantes domésticos se someten a sistemas de alimentación en los que se les ofrecen diferentes alimentos (Gordon & Prins, 2008), que incluyen, además de forraje, también ingredientes ricos en carbohidratos muy fermentables conocidos como carbohidratos no estructurales, y que consumen según su palatabilidad, tamaño de partícula o composición nutrimental. Estas características inducen el consumo selectivo del alimento por el rumiante (Hussain & Jan, 2009).

Ambos aspectos, la emisión de CH₄ y el comportamiento productivo del rumiante, están determinados por el valor nutritivo del alimento que consume, principalmente por la relación de energía y proteína (Beauchemin, Kreuzer, O'Mara, & McAllister, 2008; Johnson & Johnson, 1995; Posada & Noguera, 2005). La energía puede aumentar la producción de metano y por consecuencia el impacto en el CG (Boadi et al., 2004). De la misma manera, el consumo

selectivo del alimento por el rumiante, es influenciado por la proporción de energía y proteína que contienen. El rumiante consume en primera instancia y dependiendo de su disponibilidad, el alimento o fracción del alimento con mayor valor energético y proteico, y posteriormente consumirá el resto de alimentos o fracción del alimento de valor nutritivo menor (Soares, García, Ferreira, & Gomes, 2012).

Actualmente se usan diversos métodos para evaluar la emisión de metano (Buddle et al., 2011), selectividad, y mejorar la asimilación de dietas por rumiantes; sin embargo, la mayoría resultan costosos y poco prácticos (Danielsson et al., 2017). Por esta razón, se propone la TPG como un método de bajo costo, poco contaminante y de alta repetitividad (Miranda-Romero, Vazquez-Mendoza, Burgueño-Ferreira, & Aranda-Osorio, 2018), para estimar *in vivo*, indicadores impacto ambiental, selectividad y aprovechamiento de la fracción fermentable del alimento, en función del contenido de energía metabolizable y proteína cruda del alimento.

4.4 Material y métodos

Ubicación: la investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología Pecuaria del Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo, ubicada en el Kilómetro 38.5 de la carretera México-Texcoco, Chapingo, Estado de México; y en la Unidad de Posgrado e Investigación de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Autónoma de México, ubicado en carretera Cuautitlán-Teoloyucan, Cuautitlán Izcalli, Estado de México.

Dietas: los tratamientos consistieron en cinco dietas para ovinos cuya composición se muestran en el Cuadro 1. La dieta testigo (MM) contenía 2.8 Mcal/kg de energía metabolizable y 16% de proteína cruda (NRC, 2007). Las cuatro dietas restantes se formularon para dos niveles de energía metabolizable (2.7 y 3 Mcal kg⁻¹) y dos de proteína cruda (14 y 18%), denominadas como dietas: AA (3:18), AB (3:14), BA (2.7:18) y BB (2.7:14) (Figura 1).

Cuadro 1. Ingredientes y composición de nutrientes de cinco dietas con diferentes niveles de energía metabolizable (EM) y proteína cruda (PC).

INGREDIENTE	MM*	AA	AB	BA	BB
	EM:PC (Mcal kg ⁻¹ :%)				
	2.8:16	3:18	3:14	2.7:18	2.7:14
Heno de alfalfa, %	18.0	14.9	15.9	0.0	0.0
Heno de avena, %	0.0	0.0	0.0	14.5	14.5
Maíz quebrado, %	43.0	34.7	39.2	33.7	56.2
Canola, %	9.0	5.0	6.0	24.2	19.2
Trigo, %	11.8	13.4	0.0	17.0	0.0
Melaza, %	5.0	5.0	5.0	8.0	8.0
Galleta, %	10.7	14.9	27.8	0.0	0.0
Pasta de soya, %	0.0	5.9	0.0	0.0	0.0
Pasta de Ajonjolí, %	0.0	4.0	4.0	0.0	0.0
Urea, %	0.5	0.5	0.4	0.6	0.0
Bicarbonato, %	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Minerales, %	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Composición de nutrientes (MS)					
MS, (%)	89.8	90.6	90.8	89.8	89.1
EM (Mcal/kg ⁻¹)	2.7	2.9	2.9	2.6	2.7
PC, (%)	15.3	17.6	14	18.5	12.8
EE, (%)	2.15	6.2	5.5	1.17	1.12
FDN, (%)	8.07	10.90	8.91	13.02	13.44
FDA, (%)	43.79	36.53	33.37	38.18	48.53
Ce, (%)	6.21	6.63	7.91	9.35	5.38

*A, M y B: nivel alto, medio y bajo de energía metabolizable y proteína cruda.

EM: energía metabolizable; PC: proteína cruda; MS: materia seca; EE: extracto etéreo; FC: fibra cruda; FDN: fibra detergente neutro; FDA: fibra detergente ácido; Ce: cenizas.

Animales y manejo: se utilizaron 30 corderos machos (26.5 ± 3.7 kg de peso vivo inicial) alojados en corraletas individuales de 1 m^2 . Cada cordero fue asignado aleatoriamente a una de las cinco dietas, seis corderos (repeticiones) por dieta. Los corderos fueron adaptados a la dieta por 10 días y posteriormente fueron alimentados por 60 días más, divididos en tres periodos de 20 días. Durante cada periodo se obtuvieron 10 muestras de alimento ofrecido, alimento rechazado y heces, y se realizó una muestra compuesta de cada tipo por animal. El total de muestras fueron 270 ($3 \times 3 \times 6 \times 5$; tipos de muestra, periodos, repeticiones y dietas, respectivamente). Las muestras fueron secadas en una estufa de laboratorio a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h, molidas ($<2\text{mm}$) y usadas como sustrato para la fermentación ruminal *in vitro* (Menke & Steingass, 1988; Miranda-Romero et al., 2018).

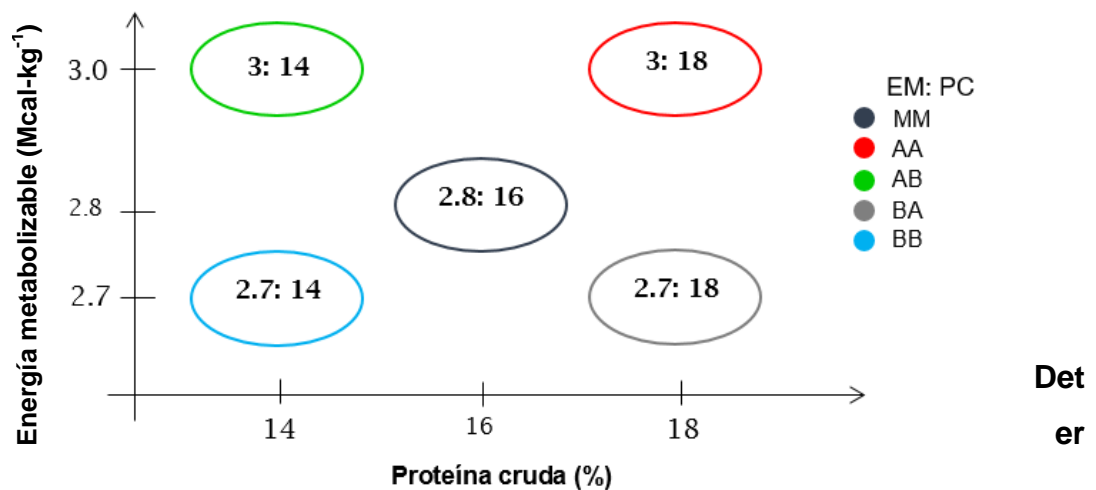


Figura 1. Representación espacial de la proporción de energía metabolizable (EM) y proteína cruda (PC) en dietas para ovinos. Valores EM:PC dentro de óvalos. MM, dieta testigo (NRC 2007; GDP 250 g/d); AA, AB, BA, BB, dietas con nivel de EM y PC, alto (A) o bajo (B).

minación de excretas por cenizas insolubles en ácido (CIA): con el fin de estimar la cantidad de excretas por día y por cordero, cinco gramos de las muestras de alimento y excretas, se colocaron en crisoles de 50 mL de capacidad, previamente pesados. Los crisoles se colocaron en una mufla a $450 \text{ }^\circ\text{C}$ por 5 h, y se enfriaron en el desecador por 4 h. Las cenizas fueron

transferidas a vasos de precipitados con capacidad de 600 mL, utilizando 100 mL de HCl (2N), y se hirvieron durante 5 minutos. Posteriormente fueron filtradas en caliente con papel filtro (Whatman 541). Los crisoles fueron lavados con agua destilada caliente y filtrados, para remover todas las cenizas del vaso. El papel filtro (previamente pesado) se colocó en el crisol y se incineró en la mufla a 450 °C durante 5 h. El porcentaje de cenizas ácido insolubles fue calculado con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas Insolubles en Ácido} = \frac{(\text{Peso del crisol} + \text{Cenizas})}{(\text{Peso del crisol} + \text{muestra})} \times 100$$

A partir del consumo diario de alimento por cordero, y el porcentaje de cenizas insolubles en ácido para cada dieta, se calculó la cantidad total de cenizas insolubles en ácido consumidas por cada cordero (CIAc). La producción de heces por cordero (PHe), se estimó dividiendo CIAc entre las CIA excretadas (CIAe), de acuerdo con la ecuación siguiente:

$$\text{PHe} = \text{CIAc} \div \text{CIAe}$$

Dónde:

PHe=producción de heces (g d⁻¹ cordero⁻¹).

CIAc=Consumo diario de CIA por cordero (g d⁻¹ cordero⁻¹).

CIAe=cenizas en heces (g g⁻¹ de heces).

Fermentación ruminal *in vitro*: se llevó a cabo la fermentación *in vitro* de las muestras de alimento ofrecido, alimento rechazado y excretas, por la técnica de producción de gas (Menke & Steingass, 1988; Theodorou, Williams, Dhanoa, McAllan, & France, 1994). Se utilizaron frascos de vidrio ámbar con capacidad de 125 mL, a los que se les agregó 500 mg de muestra, 90 mL de inóculo ruminal y un flujo constante de CO₂. Los frascos fueron cerrados herméticamente con tapón de goma y aro de aluminio, y se incubaron a 39 °C a baño maría por 24 o 72 horas. En cada fermentación se usaron tres frascos blancos con inóculo ruminal sin sustrato, para ajustar los datos.

El inóculo ruminal fue preparado con líquido ruminal extraído de bovinos fistulados de dos años de edad, y alimentados con ensilado y maíz quebrado (70:30). Este líquido fue filtrado a través de ocho capas de gasa, y diluido (1:10) en una solución mineral, reducida y mantenida en atmósfera de bióxido de carbono. La solución mineral fue compuesta de K_2HPO_4 (0.45 g L^{-1}), KH_2PO_4 (0.45 g L^{-1}), $(NH_4)_2 SO_4$ (0.45 g L^{-1}), $NaCl$ (0.90 g L^{-1}), $MgSO_4$ (0.18 g L^{-1}), $CaCl_2$ (0.12 g L^{-1}), Na_2CO_3 (4 g L^{-1}), $NaOH$ (0.8 ml L^{-1}), Na_2S (0.2 g L^{-1}), L-cisteína (0.2 g L^{-1}) y dos gota de rezarzurina (Miranda-Romero et al., 2018).

Determinación de metano y dióxido de carbono: los frascos incubados a 39°C por 24 h fueron usados para medir la producción ($\text{mL g}^{-1} \text{ MS}$) de gas total, CO_2 y CH_4 . La producción de gas total se midió con una jeringa de vidrio de 50 mL de capacidad, a las 6, 12, 18 y 24 h de incubación. En cada medición y después de registrar el volumen, el gas atrapando en la jeringa se transfirió a frascos de vidrio (125 mL de capacidad) herméticamente cerrados, los cuales contenían 60 mL de una solución de hidróxido de potasio (1M). Después de mezclar perfectamente el gas con la solución de hidróxido de potasio, se cuantificó el volumen de gas residual, compuesto de metano más gases menores (CH_4+GM). El volumen de CH_4+GM fue ajustado a metano teórico (CH_4), multiplicando por 0.77 cada valor de CH_4+GM (Zhong, Fang, Sun, Wang, & Zhou, 2016). El volumen de CO_2 se calculó por diferencia del volumen de gas total menos el volumen de gas residual.

Determinación del indicador potencial de calentamiento global: para estimar este indicador se utilizó la producción de CO_2 y CH_4 ajustada a decalitros por animal⁻¹ d⁻¹, y por kg de PV ganado, a partir de las ecuaciones siguientes:

$$PP1CO_2 = [(AO)*(CO_{2AO})] - [(AR)*(CO_{2AR})] - [(HE)*(CO_{2HE})] / [(20)*(10000)]$$

$$PP1CH_4 = [(AO)*(CH_{4AO})] - [(AR)*(CH_{4AR})] - [(HE)*(CH_{4HE})] / [(20)*(10000)]$$

$$PP2CO_2 = [(AO)*(CO_{2AO})] - [(AR)*(CO_{2AR})] - [(HE)*(CO_{2HE})] / [(GP)*(10000)]$$

$$PP2CH_4 = [(AO)*(CH_{4AO})] - [(AR)*(CH_{4AR})] - [(HE)*(CH_{4HE})] / [(GP)*(10000)]$$

Dónde:

PP1CO₂: producción potencial de bióxido de carbono (daL cordero⁻¹ d⁻¹).

PP1CH₄: producción potencial de metano (daL cordero⁻¹ d⁻¹).

PP2CO₂: producción potencial de bióxido de carbono (daL kg⁻¹ PV).

PP2CH₄: producción potencial de metano (daL kg⁻¹ PV).

AO: alimento ofrecido (g⁻¹ MS 20⁻¹ d).

AR: alimento rechazado (g⁻¹ MS 20⁻¹ d).

HE: excretas (g⁻¹ MS 20⁻¹ d).

GP: ganancia de peso (g⁻¹ MS 20⁻¹ d).

CO_{2AO}: volumen de CO₂ del AO por fermentación *in vitro* a 24 h (mL g⁻¹ MS).

CO_{2AR}: volumen de CO₂ del AR por fermentación *in vitro* a 24 h (mL g⁻¹ MS).

CO_{2HE}: volumen de CO₂ del HE por fermentación *in vitro* a 24 h (mL g⁻¹ MS).

CH_{4AO}: volumen máximo de CH₄ del AO por fermentación *in vitro* a 24 h (mL g⁻¹ MS).

CH_{4AR}: volumen máximo de CH₄ del AR por fermentación *in vitro* a 24 h (mL g⁻¹ MS).

CH_{4HE}: volumen máximo de CH₄ del AO por fermentación *in vitro* a 24 h (mL g⁻¹ MS).

Posteriormente se calculó el IPCG (mL CO₂ eq g⁻¹ MS), para lo cual se sumó la PPCO₂ y PPCH₄ (daL cordero⁻¹ d⁻¹ y kg⁻¹ PV), éste último se multiplicó previamente por el factor equivalente de 23 (Berra, Finster, & Valtorta, 2009), de acuerdo con la ecuaciones siguientes:

$$\text{IPCG1} = \text{PP1CO}_2 + (\text{PP1CH}_4 * 23)]$$

$$\text{IPCG2} = \text{PP2CO}_2 + (\text{PP2CH}_4 * 23)]$$

Donde:

IPCG1 es el indicador del potencial de calentamiento global (daL cordero⁻¹ d⁻¹).

IPCG2 es el indicador del potencial de calentamiento global (daL kg⁻¹ PV).

Determinación de los indicadores de selectividad y utilización de la fracción fermentable del alimento: los frascos incubados a 39 °C por 72 h fueron usados para medir la producción potencial de gas de fermentación. Éste fue medido con un transductor de presión (manómetro de 0-1 kg/cm²) a las 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 42, 48, 60 y 72 horas de incubación. La presión fue transformada a volumen potencial de gas (Vo; mL g⁻¹ MS) con el modelo: $Vm (ml) = [P (kg/cm^2) + 0.0495] / 1.0185$ (Miranda-Romero et al., 2018).

El volumen potencial del alimento ofrecido (Vm_{AO}), rechazado (Vm_{AR}) y heces (Vm_H), fueron usados para calcular el indicador de selectividad animal (ISA) y el indicador de utilización de la fracción fermentable del alimento (IUFA), por día y por kg de peso ganado, mediante las ecuaciones, siguientes:

$$ISA = [(Vm_{AO}) * (MS_{AO})] - [(Vm_{AR}) * (MS_{AR})] \div (10000 * 20)$$

$$IUFA = [(Vm_{AO}) * (MS_{AO})] - [(Vm_{AR}) * MS_{AR}] - [(Vm_{H}) * MS_{H}] \div (10000 * 20)$$

Donde:

ISA: indicador de selectividad animal (daL cordero⁻¹ d⁻¹).

IUFA: indicadores de utilización de la fracción fermentable del alimento (daL cordero⁻¹ d⁻¹).

Vm_{AO}: volumen máximo de gas del alimento ofrecido por fermentación a 72h. (mL g⁻¹ MS).

Vm_{AR}: volumen máximo de gas del alimento rechazado por fermentación a 72h (mL g⁻¹ MS).

Vm_H: volumen máximo de gas excretas por fermentación a 72h (mL g⁻¹ MS)

MS_{AO}: materia seca del alimento ofrecido (g d⁻¹).

MS_{AR}: materia seca del alimento rechazado (g d⁻¹).

MS_H: materia seca de excretas (g d⁻¹).

Análisis estadístico: cada periodo fue analizado por separado como un diseño completamente al azar. Se utilizó el procedimiento GLM y la prueba de

comparación múltiple de medias de Tukey (SAS, 9.4), para las variables CH₄, CO₂, IPCG, Vm_{AO}, Vm_{AR}, Vm_H, ISA y IUFA.

4.5 Resultados y discusión

El alimento ofrecido y rechazado no mostraron diferencias en ninguno de los tres periodos, pero las excretas sí (Cuadro 2). Las dietas AA y MM mostraron una tendencia a producir al menos 66.7, 52.1 y 26.9% más excretas en cada periodo. Esto puede estar influido por el método usado para estimar la cantidad de excretas, el cual fue por marcador interno de cenizas insolubles en ácido. La ganancia de peso total por periodo fue 5.16, 5.71 y 5.58 kg, equivalente a 258, 285 y 279 g d⁻¹. Sólo se detectaron diferencias en el último periodo, donde la dieta alta en energía y proteína (AA) fue 29.5 y 33.8% mayor que las dietas desbalanceadas (BA y AB). Esto coincide con los resultados de Ramírez et al. (2020), ya que mostraron que los niveles altos de energía metabolizable y proteína cruda mejoran la ganancia diaria de peso.

Cuadro 2. Alimento ofrecido (AO), rechazado (AR), heces (HE) y ganancia de peso (GTP) por corderos alimentados con dietas de diferente proporción de EM:PC y, producción de bióxido de carbono y metano de la fermentación *in vitro*, en tres periodos de engorda.

Periodo (días)	EM:PC (Mcal:%)	AO AR HE			GTP (kg)	CO ₂ (mL g ⁻¹ MS)			CH ₄ (mL g ⁻¹ MS)		
		g x 10 ³ cordero ⁻¹				AO	AR	HE	AO	AR	HE
01 a 20	BB	23.2	5.6	3.6 ^b	4.78	211.0 ^a	37.9 ^b	13.5 ^{bc}	1.8 ^d	11.3 ^{bc}	4.8 ^{ab}
	BA	22.7	5.6	3.5 ^b	4.60	118.5 ^b	40.8 ^b	11.0 ^c	13.2 ^{bc}	7.9 ^c	5.1 ^{ab}
	MM	23.3	2.2	10.9 ^a	5.36	192.5 ^a	145.9 ^a	10.7 ^c	9.4 ^c	20.6 ^a	3.1 ^b
	AB	22.3	4.8	1.8 ^c	4.78	171.7 ^a	151.9 ^a	17.2 ^{ab}	19.1 ^a	12.6 ^{abc}	5.5 ^{ab}
	AA	23.3	3.1	11.6 ^a	6.28	160.8 ^a	139.7 ^a	22.8 ^a	15.4 ^{ab}	17.8 ^{ab}	7.6 ^a
21 a 40	BB	27.6	3.2	5.6 ^c	5.52	171.0	78.3 ^{bc}	7.4 ^b	6.9 ^a	3.97	1.1 ^a
	BA	26.9	2.9	4.2 ^c	4.82	157.9	39.5 ^c	3.7 ^c	5.6 ^a	3.36	0.2 ^c
	MM	27.8	1.9	16.5 ^a	5.98	160.4	90.6 ^{abc}	10.7 ^{abc}	2.1 ^b	4.61	0.5 ^{bc}
	AB	26.5	2.3	4.7 ^c	5.88	186.6	151.1 ^a	18.6 ^a	6.9 ^a	4.11	0.1 ^c
	AA	28.9	2.1	11.7 ^b	6.34	187.8	110.3 ^{ab}	14.4 ^{ab}	8.1 ^a	5.99	1.0 ^{ab}
41 a 60	BB	32.4	4.5	4.8 ^d	5.3 ^{ab}	181.6 ^a	42.6 ^c	18.3	10.9 ^c	21.7 ^a	3.95
	BA	31.1	3.6	4.8 ^d	5.0 ^b	164.2 ^{ab}	16.2 ^c	16.2	24.5 ^b	6.5 ^b	2.41
	MM	33.1	3.4	18.4 ^a	5.9 ^{ab}	163.4 ^{ab}	86.7 ^b	17.8	33.1 ^a	5.4 ^c	1.36
	AB	31.7	5.8	8.4 ^c	4.7 ^b	150.6 ^b	150.6 ^a	17.7	28.7 ^{ab}	13.1 ^{abc}	1.82
	AA	34.3	4.4	11.5 ^b	7.1 ^a	124.8 ^c	93.3 ^b	21.9	23.5 ^b	15.6 ^{ab}	2.49

a,b,c... medias dentro de columnas (por periodo) con al menos una letra en común no son diferentes.

Dentro de paréntesis Mcal kg⁻¹ y % de energía metabolizable y proteína, expresadas como nivel bajo (B), medio (M) y alto (A) de EM y PC.

El Cuadro 2 muestra una tendencia similar en la producción de CO₂ y CH₄ para los tres periodos, donde las dietas bajas en energía produjeron la menor cantidad de CO₂, y las dietas altas en energía produjeron la mayor cantidad de metano, siendo el último periodo donde se presentaron los valores más altos. Estas tendencias coinciden con lo reportado por Mcgrath et al. (2018), quienes encontraron las mayores emisiones de CH₄ en vacas alimentadas con dietas altas en concentrado, es decir con mayor energía. Sin embargo, debido a que estos datos se refieren a la producción por gramo de materia seca, pueden estar sesgados de la realidad, por lo que se ajustaron con el comportamiento alimentario (alimento ofrecido, rechazado y excretas), y con la ganancia de peso para estimar la producción de CO₂, CH₄ y el índice potencial de calentamiento global por animal por día y por kilogramo de peso ganado (Cuadro 3).

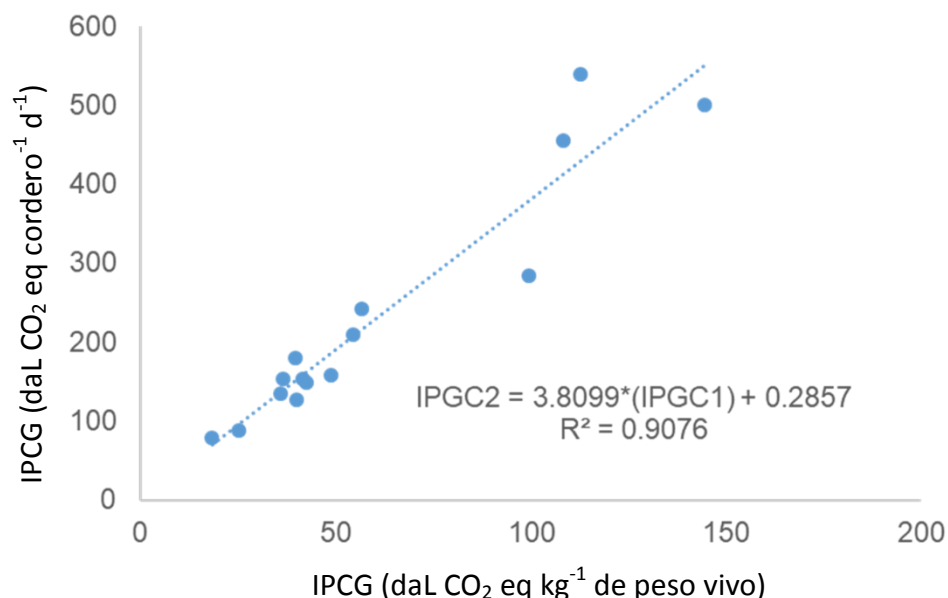
En los primeros 20 días de la engorda, la dieta baja en energía y proteína (BB) mostró los valores más bajos para CH₄ e IPCG (tanto en unidades de animal por día como en kilogramos de peso vivo ganado). La dieta alta en energía y baja en proteína (AB) mostró los valores más altos para estas mismas variables y en las mismas unidades. Esto contrasta con lo obtenido por Grainger y Beauchemin (2011), quienes mencionan que las dietas altas en energía tienden a presentar menores emisiones de CH₄. Sin embargo, coincide con lo descrito por Machmüller y Clark (2006), quienes mencionan que dietas altas en energía tienden a producir mayor cantidad de metano y de producto (carne o leche). La dieta BA produjo 41.5 y 48.2% menos CO₂ (animal⁻¹ día⁻¹) que las dietas MM y BB, respectivamente. La dieta BB produjo 47.4 y 53.4% más CO₂ (kg⁻¹ P.V. ganado) que las dietas altas en proteína (BA y AA, respectivamente).

Del día 21 al 40, la dieta MM produjo al menos 71.4 y 44.4% menos metano e IPCG por animal por día, y 79.3 y 41.5% menos metano e IPCG por kilogramo

de peso vivo ganado respecto a las otras dietas. La producción de CO₂ no mostró diferencias entre tratamientos. Este periodo mostró tendencias en las variables diferentes a lo determinado en el primero y el último periodo, pero pese a ello, el comportamiento medio de toda la engorda para CH₄ e IPCG fue similar, lo que se muestra en la Figura 3.

En los últimos 20 días de la engorda, se mostró una tendencia similar a la de los primeros 20 días, siendo la dieta BB la que produjo la menor cantidad de CH₄ e IPCG por animal por día con respecto a la dieta MM, y por kilogramo de peso vivo con respecto a la dieta AB. Esto coincide con lo reportado por Lan y Yang (2019), quienes mencionan que dietas bajas en energía sin excedente o déficit de proteína presentan bajas producciones de metano por unidad de producto. En este estudio, la dieta AA produjo al menos 27 y 49.8% menos CO₂ (animal⁻¹ día⁻¹ y kg⁻¹ P.V. ganado, respectivamente) que las dietas bajas en energía (BB y BA).

La Figura 2 muestra la relación del IPCG, entre lo calculado por cordero por día y lo estimado por kilogramo de ganancia de PV. Se observó que tienen un alto valor de R² (0.9076), lo cual indica que no afecta como se exprese este índice, ambos proporcionan una idea clara del potencial de calentamiento global entre



dietas.

Figura 2. Relación de indicadores del potencial de calentamiento global (IPCG) estimado por día y por kg de ganancia de peso vivo.

Cuadro 3. Emisión de gases efecto invernadero e indicador potencial de calentamiento global de dietas con distinta proporción de energía y proteína, en tres periodos de engorda de corderos.

Periodo (días)	Tratamiento			CO ₂ ^X	CH ₄ ^Y	IPCG1	CO ₂ ^{X1}	CH ₄ ^{Y1}	IPCG2
	Proporción	EM	PC	DaL	daL	daL CO ₂ eq	daL	daL	daL CO ₂ eq
	EM:PC*	Mcal kg ⁻¹	%	animal ⁻¹ día ⁻¹			kg ⁻¹ P.V. ganado		
01 a 20	BB	2.7	13	23.2 ^a	0.01 ^c	18.4 ^c	104.5 ^a	0.01 ^c	79.0 ^c
	BA	2.6	19	12.0 ^b	1.2 ^{ab}	39.6 ^b	55.0 ^b	5.4 ^{ab}	179.9 ^{ab}
	MM	2.7	15	20.5 ^a	0.7 ^b	35.8 ^b	77.9 ^{ab}	2.5 ^b	134.8 ^{bc}
	AB	2.9	14	15.4 ^{ab}	1.8 ^a	56.7 ^a	64.5 ^{ab}	7.7 ^a	241.9 ^a
	AA	2.9	18	15.2 ^{ab}	1.1 ^b	39.9 ^b	48.7 ^b	3.4 ^b	127.5 ^{bc}
21 a 40	BB	2.7	13	21.9	0.9 ^a	41.5 ^a	80.6	3.2 ^a	153.1 ^a
	BA	2.6	19	20.8	0.7 ^a	36.7 ^{ab}	87.6	2.9 ^a	153.6 ^a
	MM	2.7	15	20.3	0.2 ^b	25.4 ^b	74.7	0.6 ^b	87.4 ^b
	AB	2.9	14	22.6	0.9 ^a	42.6 ^a	78.6	3.1 ^a	149.5 ^a
	AA	2.9	18	25.1	1.4 ^a	49.0 ^a	81.2	3.3 ^a	158.2 ^a
41 a 60	BB	2.7	13	28.0 ^a	1.2 ^c	54.6 ^c	108.1 ^a	4.4 ^b	208.8 ^b
	BA	2.6	19	24.8 ^a	3.6 ^b	108.3 ^b	103.2 ^a	15.3 ^{ab}	455.1 ^{ab}
	MM	2.7	15	23.8 ^{ab}	5.3 ^a	144.6 ^a	82.6 ^{ab}	18.2 ^a	500.8 ^{ab}
	AB	2.9	14	18.8 ^{bc}	4.1 ^{ab}	112.8 ^b	88.0 ^{ab}	19.6 ^a	539.7 ^a
	AA	2.9	18	18.1 ^c	3.5 ^b	99.4 ^b	51.8 ^b	10.1 ^{ab}	284.1 ^{ab}

Cuadro 3. Continuación...

a,b,c... medias dentro de columnas con al menos una letra en común no son diferentes.

EM: energía metabolizable; PC: proteína cruda; CO₂; IPCG: indicador potencial de calentamiento global; GDP: ganancia diaria de peso.*Expresadas como nivel bajo (B), medio (M) y alto (A) de EM y PC.

Los valores de CO₂, CH₄ y IPCG, fueron calculados con los datos del Cuadro 2 con las siguientes ecuaciones:

$$^X \text{daLCO}_2 \text{ cordero}^{-1} \text{ d}^{-1} = [(g \text{ AO}) * (mL \text{ CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ AO})] - [(g \text{ AR}) * (mL \text{ CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ AR})] - [(g \text{ HE}) * (mL \text{ CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ HE})] / [(20 \text{ d}) * (10000)]$$

$$^X \text{daLCO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ P.V.} = [(g \text{ AO}) * (mL \text{ CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ AO})] - [(g \text{ AR}) * (mL \text{ CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ AR})] - [(g \text{ HE}) * (mL \text{ CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ HE})] / [(kg \text{ GP en 20 días}) * (10000)]$$

$$^Y \text{daLCH}_4 \text{ cordero}^{-1} \text{ d}^{-1} = [(g \text{ AO}) * (mL \text{ CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ AO})] - [(g \text{ AR}) * (mL \text{ CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ AR})] - [(g \text{ HE}) * (mL \text{ CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ HE})] / [(20 \text{ d}) * (10000)]$$

$$^Y \text{daLCH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ P.V.} = [(g \text{ AO}) * (mL \text{ CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ AO})] - [(g \text{ AR}) * (mL \text{ CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ AR})] - [(g \text{ HE}) * (mL \text{ CH}_4 \text{ g}^{-1} \text{ HE})] / [(kg \text{ GP en 20 días}) * (10000)]$$

$$\text{IPCG1 daL CO}_2 \text{ eq cordero}^{-1} \text{ d}^{-1} = [\text{daL CO}_2 \text{ cordero}^{-1} \text{ d}^{-1}] + [(\text{daL CH}_4 \text{ cordero}^{-1} \text{ d}^{-1}) * 23]$$

$$\text{IPCG2 daL CO}_2 \text{ eq kg}^{-1} \text{ P.V.} = [\text{daL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ P.V.}] + [(\text{daL CH}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ P.V.}) * 23]$$

El metano mantiene una estrecha relación con el IPCG, debido a que es 23 veces más contaminante (Yan et al., 2010) que el dióxido de carbono. Por tanto, es igual de útil usar el IPCG o el metano para determinar el efecto del tratamiento. Esto coincide con lo descrito por Eugéne et al. (2019) quienes describieron que el 88% del IPCG proviene del CH₄ entérico. El volumen de metano puede estimarse en unidades como: animal por día, hato por día, animal por periodo o hato por periodo de engorda (60 días). Las dietas desbalanceadas (BA y AB) y la dieta balanceada a niveles medios (MM), mostraron una mayor producción del IPCG y de metano con respecto a las dietas balanceadas a un nivel bajo (BB) y alto (AA) de EM y PC (Figura 3).

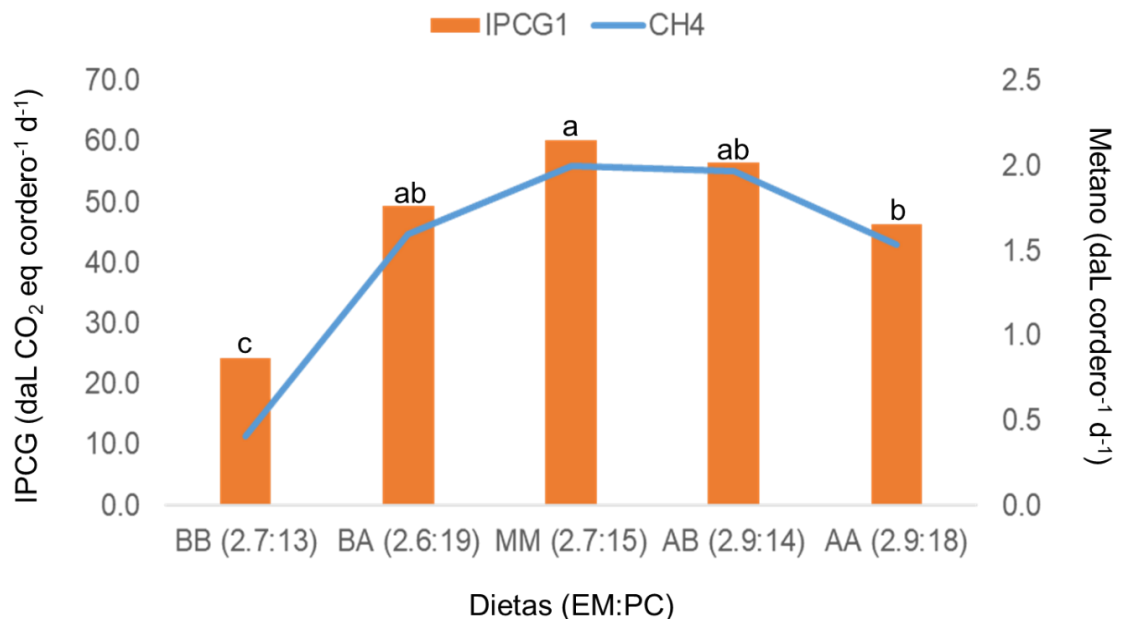


Figura 3. Efecto de la proporción EM:PC de la dieta en la emisión de CH₄ y el indicador del potencial de calentamiento global (IPCG) de corderos.

Los indicadores de selectividad animal (ISA) y utilización de la fracción fermentable (IUFA) fueron calculados como diferencias entre lo que el animal consumió y rechazo, y entre lo que consumió, rechazo y excreto, respectivamente. Por tanto, si el valor de estos indicadores es un número positivo, indica que el animal seleccionó el alimento con más carbohidratos fermentables para su consumo y utilizó en su tracto digestivo la mayoría de los carbohidratos fermentables. Mientras más alto sea el número, mayor es la

selectividad y la utilización. Valores de cero, cercanos a cero o negativos van a estar determinados por el ISA e indican que no hay selectividad, hay poca selectividad o que el animal seleccionó el alimento con menos carbohidratos fermentables para su consumo, y rechazó el alimento con más carbohidratos fermentables.

En los primeros 20 días de la engorda la dieta BA mostró un IS 58 y 61% más bajo que las dietas BB y MM, respectivamente. Por tanto, los corderos alimentados con BA fueron menos selectivos que los alimentados con BB y MM. Esto puede explicarse debido a que la relación energía proteína en BA es muy baja, es decir hubo menos energía metabolizable por cada unidad porcentual de proteína y el cordero consumió la mayoría de los carbohidratos para poder metabolizar el exceso de proteína de la dieta. Esto coincide con lo descrito por Klee, Pulido, & Chavarría (2000), quienes mencionan que el exceso de proteína en la dieta equivale a una mala utilización de la energía disponible. Además, se mostró una tendencia de las dietas balanceadas (BB, MM y AA) a presentar mayor selectividad que las desbalanceadas, y esta tendencia fue inversamente proporcional a su nivel de energía metabolizable y proteína cruda (EM:PC), es decir a menor cantidad de EM y PC, la selectividad fue mayor, y a mayor de cantidad de EM y PC, la selectividad fue menor. Salah, Sauvart y Archimède, (2014) describen que el alimento ofrecido a los animales debe tener una relación energía:proteína adecuada para cada especie, por lo que los excesos o déficits de cualquier nutriente provocarán desórdenes metabólicos en cascada que terminarán traduciéndose en una baja producción.

En este mismo periodo, la dieta BA mostró un IUFA 53 y 57% más bajo que las dietas BB y MM. Por tanto los corderos alimentados con BA tuvieron un menor aprovechamiento del alimento en el tracto digestivo que los corderos alimentados con BB y MM. Tao et al. (2017) mencionan que el exceso de proteína en la dieta BA requiere un gasto de energía considerable para metabolizarla; por tanto, el cordero gastó la poca energía que consumía en eliminar el exceso de proteína, dando como resultado un sistema poco eficiente.

Del día 21 al 40 de la engorda, la dieta BA mostró un ISA al menos 56% menor que el resto de las dietas. Por tanto, los corderos alimentados con BA fueron menos selectivos que el resto de los corderos. Este comportamiento es similar al del primer periodo, en el sentido que la dieta BA es la menos eficiente, debido al exceso de proteína y al déficit de energía que presenta. La dieta BA mostró un IUFA hasta 52% menor que las dietas BB, AB y AA. Al igual que el primer periodo la dieta BA sigue siendo la de menor aprovechamiento.

Cuadro 4. Volumen máximo (Vm) de gas del alimento ofrecido (AO), rechazado (AR) y heces (HE), indicador de selectividad (ISA) y utilización de la fracción fermentable (IUFA) de dietas con relación EM:PC distinta en corderos.

Periodo (días)	EM:PC (Mcal:%)	VmAO	VmAR	VmHE	IS*	IUFA*
		mL g ⁻¹			daL cordero-1 d-1	
01 a 20	BB	467.2	239.2	74.8	23.0 ^a	22.7 ^a
	BA	341.7	247.1	83	13.4 ^b	12.1 ^b
	MM	459.3	403	104.3	21.8 ^a	21.1 ^a
	AB	436.9	373.9	70.7	19.9 ^{ab}	17.9 ^{ab}
	AA	448.8	396.3	84.2	18.8 ^{ab}	16.9 ^{ab}
21 a 40	BB	468.5	235.5	102.1	23.4 ^a	23.2 ^a
	BA	346.1	222.9	64	12.5 ^b	12.2 ^b
	MM	426.3	266.4	91.2	22.1 ^a	21.2 ^{ab}
	AB	429.5	386.9	84.6	24.1 ^a	23.7 ^a
	AA	434.2	328.7	92.6	27.8 ^a	26.9 ^a
41 a 60	BB	395.1	246.8	83.2	30.1 ^{ab}	29.5 ^{ab}
	BA	363.3	185.6	72.7	29.5 ^{ab}	28.1 ^{ab}
	MM	381.3	289.3	98.7	32.5 ^a	30.6 ^a
	AB	394.7	385.7	80.7	24.9 ^b	24.1 ^b
	AA	382.1	357.1	82	29.2 ^{ab}	28.2 ^{ab}

a,b,c... medias dentro de columnas con al menos una letra en común no son diferentes.

$$ISA = [(Vm_{AO}) * (M S_{AO})] - [(Vm_{AR}) * (M S_{AR})] \div (10000 * 20)$$

$$IUFA = [(Vm_{AO}) * (M S_{AO})] - [(Vm_{AR}) * (M S_{AR})] - [(Vm_H) * (M S_H)] \div (10000 * 20)$$

*La materia seca de AO, AR y HE para la estimación de indicadores se muestran en el Cuadro 2

Del día 41 al 60 se mostraron valores más altos con respecto a los dos periodos anteriores, tanto para el ISA como para IUFA. Por tanto, para ISA el estudio muestra que cuando los animales están cerca de su peso adulto seleccionan más la dieta. Esta información contrasta con la publicada por Montossi, Pigurina, Santamarina, y Berretta (2000), quienes mencionan que los animales

adultos tienden a ser menos selectivos. Por otro lado, para IUFA el estudio muestra que cuando los animales están cerca de su peso adulto asimilan mejor la dieta. Esto coincide con lo observado por Hristov et al. (2019), quienes mencionan que la población microbiana se adapta al tipo de dieta a través del tiempo.

La dieta MM mostró un ISA al menos 10% mayor que las dietas altas en energía (AB y AA). Por tanto, los corderos alimentados con MM fueron más selectivos que los alimentados con las dietas AB y AA. Esto puede explicarse debido a que en este periodo los animales están por alcanzar su peso adulto y sus requisitos de mantenimiento y crecimiento son menores, por lo que no necesitan ser selectivos en dietas altas en energía. Lo anterior coincide con Soares et al. (2012), quienes mencionan que el valor nutritivo de los alimentos es una característica que determina la selectividad de un alimento.

La dieta MM mostró un IUFA 21% mayor que el de la dieta AB. Por tanto, los corderos alimentados con MM aprovecharon mejor la dieta en este periodo que los alimentados con AB. Además, existe una tendencia a que las dietas balanceadas muestren un IA mayor que las desbalanceadas.

4.6 Conclusiones

Los indicadores de calentamiento global, selectividad y utilización de la fracción fermentable, estimados con la técnica de producción de gas *in vitro* a 24 y 72 horas de incubación, son útiles para estimar el impacto ambiental por la emisión de gases, la selectividad y la asimilación de dietas con diferentes niveles de energía y proteína, en la engorda de corderos. La proporción energía metabolizable y proteína cruda en el alimento, afecta la producción de metano y en consecuencia el IPCG, siendo mayor cuando las dietas son desbalanceadas en EM y PC, y para los últimos días de la engorda de corderos. El IPCG puede expresarse tanto en decalitros por animal por día como en decalitros por kilogramos de peso vivo ganado, y ambos dan una idea clara del potencial de contaminación que puede generar una dieta. Los indicadores de selectividad y

asimilación presentan un comportamiento similar; por tanto, la asimilación está directamente relacionada con la selectividad de la dieta.

4.7 Literatura citada

- Beauchemin, K. A., Kreuzer, M., O'Mara, F., & McAllister, T. A. (2008). Nutritional management for enteric methane abatement: A review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48(2), 21–27. <https://doi.org/10.1071/ea07199>.
- Berra, G., Finster, L., & Valtorta, S. E. (2009). Una técnica sencilla para la medición de emisiones de metano entérico en vacas. *FAVE Sección Ciencias Veterinarias*, 8(1), 49–56. <https://doi.org/10.14409/favecv.v8i1.1479>.
- Boadi, D., Benchaar, C., Chiquette, J., & Massé, D. (2004). Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: Update review. *Canadian Journal of Animal Science*, 84(3), 319–335. <https://doi.org/10.4141/A03-109>.
- Buddle, B. M., Denis, M., Attwood, G. T., Altermann, E., Janssen, P. H., Ronimus, R. S., & Wedlock, D. N. (2011). Strategies to reduce methane emissions from farmed ruminants grazing on pasture. *The Veterinary Journal*, 188(1), 11–17.
- Danielsson, R., Ramin, M., Bertilsson, J., Lund, P., & Huhtanen, P. (2017). Evaluation of a gas *in vitro* system for predicting methane production in vivo. *Journal of Dairy Science*, 100(11), 8881–8894. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12675>.
- Eugéne, M., Sauvant, D., Noziere, P., Viallard, D., Oueslati, K., Lherm, M., & Doreau, M. (2019). A new Tier 3 method to calculate methane emission inventory for ruminants. *Journal of Environmental Management*, 231, 982–988.
- González, D. A., & Carlsson, K. A. (2007). Emisiones de gases efecto invernadero con alto potencial de calentamiento global: el sector agropecuario. *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente*, 11, 7–14.
- Gordon, I. J., & Prins, H. H. T. (2008). Grazers and Browsers in a Changing World: Conclusions. In: Gordon IJ, Prins HH, editors. *The Ecology of Browsing and Grazing*. Editorial: Springer-Verlag. Berlin Heidelberg (pp. 309–320). <https://doi.org/10.1007/978-3-540-72422-3>.
- Grainger, C., & Beauchemin, K. A. (2011). Can enteric methane emissions from ruminants be lowered without lowering their production? *Animal Feed Science and Technology*, 166–167, 308–320.

- Hill, J., McSweeney, C., Wright, A. D. G., Bishop-Hurley, G., & Kalantar-zadeh, K. (2016). Measuring methane production from ruminants. *Trends in Biotechnology*, 34(1), 26–35.
- Hristov, A. N., Bannink, A., Crompton, L. A., Huhtanen, P., Kreuzer, M., Mcgee, M., & Schwarm, A. (2019). Nitrogen in ruminant nutrition: A review of measurement techniques. *Journal Dairy Science*, 102, 5811–5852. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15829>.
- Hussain, F., & Jan, D. M. (2009). Seasonal availability, palatability and animal preferences of forage plants in harbot arid range land, Kalat, *Pakistan. Pakistan Journal of Botany*, 41(2), 539–554.
- Johnson, K. A., & Johnson, D. E. (1995). Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 73, 2483–2492. <https://doi.org/1995.7382483x>.
- Klee, G. G., Pulido, F. R., & Chavarría, R. J. (2000). Selectivity of ewes grazing on wheat stubble. *Agricultura Técnica*, 60(4).
- Lan, W., & Yang, C. (2019). Ruminant methane production: Associated microorganisms and the potential of applying hydrogen-utilizing bacteria for mitigation. *Science of the Total Environment*, 654, 1270–1283.
- Machmüller, A., & Clark, H. (2006). First results of a meta-analysis of the methane emission data of New Zealand ruminants. *International Congress Series*, 1293, 54–57.
- Mcgrath, J., Duval, S. M., Tamassia, L. F. M., Kindermann, M., Stemmler, R. T., Gouvea, V. N. De, & Celi, P. (2018). Nutritional strategies in ruminants: A lifetime approach. *Research in Veterinary Science*, 116, 28–39. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.09.011>.
- Menke, K. H., & Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28, 7–55.
- Miranda-Romero, L. A., Vazquez-Mendoza, P., Burgueño-Ferreira, J. A., & Aranda-Osorio, G. (2018). Nutritive value of cactus pear silages for finishing lambs. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 20, 196–215.
- Montossi, F., Pigurina, G., Santamarina, I., & Berretta, E. (2000). Selectividad animal y valor nutritivo de la dieta de ovinos y vacunos en sistemas ganaderos: teoría y práctica. (U. de A. y D. del INIA, Ed.) (Segunda Ed).
- Pérez, B. F. J. (2017). Scaling methane emissions in ruminants and global estimates in wild populations. *Science of The Total Environment*, 579, 1572–1580.

- Posada, S. L., & Noguera, R. R. (2005). Técnica *in vitro* de producción de gases: una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *Livestock Research for Rural Development*, 17(4).
- Ramírez, M., Testa, L. M., López, V. S., Latorre, M. E., Long, N. M., Rodríguez, A. M., & Maresca, S. (2020). Maternal energy status during late gestation: Effects on growth performance, carcass characteristics and meat quality of steers progeny. *Meat Science*, 164, 182–189.
- Salah, N., Sauvant, D., & Archimède, H. (2014). Nutritional requirements of sheep, goats and cattle in warm climates: A meta-analysis. *Animal*, 8(9), 1439–1477. <https://doi.org/10.1017/S1751731114001153>.
- Soares, A. C. M., García, R., Ferreira, V. J., & Gomes, P. O. (2012). Productivity, utilization efficiency and sward targets for mixed pastures of marandugrass, forage peanut and tropical kudzu. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(3), 512–520.
- Tao, M. A., Kai-dong, D., Yan, T. U., Nai-feng, Z., Bing-wen, S. I., Gui-shan, X. U., & Qi-yu, D. (2017). Protein requirements of early-weaned Dorper crossbred female lambs. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(5), 1138–1144. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61455-7](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61455-7).
- Tarazona, A. M., Ceballos, M. C., Naranjo, J. F., & Cuartas, C. A. (2012). Factors affecting forage intake and selectivity in ruminants. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25, 473–487.
- Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, M. S., & France, A. B. J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48, 185–197.
- Yan, T., Mayne, C. S., Gordon, F. G., Porter, M. G., Agnew, R. E., Patterson, D. C., & Kilpatrick, D. J. (2010). Mitigation of enteric methane emissions through improving efficiency of energy utilization and productivity in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93(6), 2630–2638. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2929>.
- Zhong, R. Z., Fang, Y., Sun, H. X., Wang, M., & Zhou, D. W. (2016). Rumen methane output and fermentation characteristics of gramineous forage and leguminous forage at differing harvest dates determined using an *in vitro* gas production technique. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(2), 414–423. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(15\)61036-X](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61036-X).