



Universidad Nacional
de Tucumán



Facultad de Agronomía y
Zootecnia

**TESIS DE MAESTRÍA PARA LA OBTENCION DEL GRADO SUPERIOR DE:
MAGISTER EN PRODUCCION ANIMAL**

**EFFECTO DEL NIVEL DE SUPLEMENTACIÓN CON GRANOS DE
DESTILERÍA SOBRE LA UTILIZACIÓN Y PRODUCCIÓN DE METANO DE
Panicum maximum (cv. GATTON) DIFERIDO EN BOVINOS PARA CARNE**

Tesista:

Ingeniero Agrónomo Olegario Hernández

Director: Ing. Agr., MSc., Ph.D. José Ignacio Arroquy

Comisión de supervisión: Ing. Agr. MSc., PhD. Alejandro Radrizzani Bonadeo

Ing. Zoot. MSc. Manuela R. Toranzos

TUCUMAN – Argentina 14 de Diciembre de 2017



Universidad Nacional
de Tucumán



Facultad de Agronomía y
Zootecnia

AUTORIDADES

Rectora: Dra. Alicia Bardón

Vicerrector: Ing. José García

Decano: Ing. Héctor Rolando Navarro

Vicedecana: Ing. Agr. Adriana Patricia Jaime



Universidad Nacional
de Tucumán



Facultad de Agronomía y
Zootecnia



Universidad Nacional
de Santiago del Estero



Facultad de
Agronomía y
Agroindustrias



COMITÉ ACADÉMICO

Director: Dr. (Ing. Agr.) José Ignacio Arroquy
Codirector: Mg. (Ing. Zoot.) Pedro Gerardo Pérez

Miembros titulares por la FAZ - UNT

Dr. (Ing. Agr.) Raúl Osvaldo Pedraza
Dr. (Ing. Zoot.) Adolfo Carlos de la Vega

Miembros Alternos por la FAZ - UNT

Dr. (Ing. Zoot.) Harold Vega Parry
Dr. (Ing. Zoot.) Rubén Oliszewski

Miembros titulares por la FAYA - UNSE

Dra. (Ing. Agr.) Mónica Nazareno
MSc. (Ing. Agr.) Arnaldo Fumagalli

Miembros alternos por la FAYA - UNSE

Dra. (Ing. Agr.) Sandra Martínez
M. Sc. (Ing. Agr.) Noelia David

Miembro Titular por el IIACS

Dr. (Ing. Agr.) Alejandro Radrizzani

Miembro Alterno por el IIACS

Dr. (Ing. Zoot.) María Zimmermann

Miembro Titular por la EEASE

MSc. (Ing. Agr.) Mónica Cornacchione

Miembro Alterno por la EEASE

Dra. (Lic.) Bibiana Volta



Universidad Nacional
de Tucumán



Facultad de Agronomía y
Zootecnia

**EFFECTO DEL NIVEL DE SUPLEMENTACIÓN CON GRANOS DE
DESTILERÍA SOBRE LA UTILIZACIÓN Y PRODUCCIÓN DE METANO DE
Panicum maximum (cv. GATTON) DIFERIDO EN BOVINOS PARA CARNE**

Tesista:

Ingeniero Agrónomo Olegario Hernández

Director:

Ing. Agr., MSc., Ph.D. José Ignacio Arroquy

Comisión de supervisión:

Ing. Agr. MSc., PhD. Alejandro Radrizzani Bonadeo

Ing. Zoot. MSc. Manuela R. Toranzos

DEDICATORIA

Dedico esta tesis de maestría a mi familia que es mi fortaleza en todos los aspectos de la vida. En especial a mi madre.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por la vida y salud, y la fuerza que impulsa para realizar las tareas del día a día.

A mis padres Olegario y Claudia, por el apoyo incondicional y dedicación para con sus hijos. Por formar una familia unida y trabajadora, y de transmitir e inculcar buenos valores.

A mis hermanos Eugenia y Juan, por su gran cariño y aporte en diferentes etapas de la vida.

A mis sobrinas Catalina y Lourdes, que son dos personitas que me llenan el alma.

A mi madrina Elisa, quien con gran cariño supo aportar su granito de arena para este trabajo.

A mi director José Ignacio Arroquy, quien fue un padre tanto en la formación profesional como en investigación a lo largo de esta tesis de maestría.

A mis supervisores Manuela Toranzos y Alejandro Radrizzani por los aportes y seguimiento.

Al jurado de tesis Osvaldo Balbuena, José Nasca y Harold Vega Parry por sus contribuciones en este trabajo.

A Agustín López, Héctor Fissolo por el gran apoyo sincero y desinteresado en diferentes actividades realizadas en esta tesis.

Al grupo de Química de la UNSE, a cargo de Mónica Nazareno, en especial a Mariana García por su gran ayuda y amistad.

A Sebastián Reineri por el apoyo en la sanidad de los animales utilizados en los experimentos.

A mis compañeros y amigos de INTA, Augusto Imaz, Anita Juárez, Tere Sosa, Abel Azar, Bibiana Volta, Mariana Ávila, Juan Saravia, Lourdes Mijoevich, Marcelo Gerónimo, Alfredo Martín, Jorge Parrado, Javier Lara, Eliana Bianchi, Milagros Della Rosa, Virginia Viale y Marcelo Pamies.

Al grupo de Veterinaria de la UNICEN (TANDIL) en especial a Karen Williams y José Gere por transmitir de forma generosa sus experiencias, a Horacio Gonda, Paula Juliarena y Sergio Guzmán.

A la EEA INTA Santiago del Estero, Universidad Nacional de Santiago del Estero y al Instituto de Investigación Animal del Chaco Semiárido (IIACS).

MUCHAS GRACIAS!!!.

"Imposible es solo una palabra que utilizan los débiles que encuentran más fácil vivir en el mundo que les han dado que explorar el poder que tienen para cambiarlo. Imposible no es un hecho. Es una opinión. Imposible no es una declaración. Es un desafío. Imposible es potencial. Imposible es temporal. Nada es imposible".

Mohammed Ali

RESUMEN

La suplementación energético-proteica de forrajes de baja calidad es una práctica necesaria para lograr un adecuado desempeño animal durante la estación seca en sistemas ganaderos a base de pasturas megatérmicas. En la Argentina, con el desarrollo actual y el potencial de ampliación a futuro de la industria del bioetanol de maíz, surge la alternativa regional del uso de los granos de destilería con solubles (DDGS) como suplementos energético-proteicos en reemplazo de suplementos tradicionales. En este aspecto, los DDGS por su composición nutricional constituyen un excelente recurso para corregir las deficiencias de N, baja digestibilidad y consumo que limitan la productividad animal invernal. Si bien los DDGS aportan proteína y energía, simultáneamente existe un aporte importante de extracto etéreo, el cual puede alterar la respuesta productiva y modular la fermentación ruminal impactando sobre la utilización de la fibra y la metanogénesis. El objetivo de esta serie de estudios fue evaluar el efecto de la suplementación con DDGS sobre el consumo de materia seca, la digestibilidad, la performance animal y las emisiones de metano entérico sobre heno de baja calidad de *Panicum maximum* (cv. Gatton panic). *Experimento I.* En este trabajo se evaluó el impacto de la suplementación de Gatton panic de baja calidad sobre la utilización del forraje y el perfil ruminal de novillos Braford. Para este trabajo se utilizaron 12 novillos (9 fistulados de rumen y 3 sin fistular) alojados en corrales individuales. Los tratamientos consistieron en la suplementación de heno de *Panicum maximum* (cv. Gatton panic) con 3 niveles de DDGS): 0 (sin suplementación), 6: suplementación con 6 g MS DDGS/ kg PV y 12: suplementación con 12 g MS DDGS/ kg PV. La suplementación con DDGS incrementó linealmente ($P < 0,01$) el consumo de MO total y de PB, y de FDN, mientras que no hubo efecto sobre FDA, expresados en g/kg PV^{0,75}. El consumo de EE tuvo un incremento (Lineal; $P < 0,01$). Por otra parte, el consumo de heno disminuyó (Lineal; $P < 0,01$) a medida que aumenta el nivel de suplementación con DDGS. La digestibilidad del tracto total de MO, PB y EE aumentaron con la suplementación con DDGS (Lineal; $P < 0,01$), mientras que la digestibilidad de FDN tendió a aumentar linealmente ($P = 0,07$) en respuesta al aumento del nivel de DDGS. La digestibilidad de la FDA, por su parte, no fue afectada por la suplementación con DDGS. El consumo de MO, PB, FDN y FDA digestible aumento con la suplementación con DDGS (Lineal; $P < 0,01$). No se observaron diferencias en la tasa de pasaje de

sólidos entre los tratamientos ($P = 0,43$). Se observó una disminución en forma lineal ($P < 0,01$) en el pH ruminal en respuesta a mayores niveles de DDGS. Sin embargo, la suplementación no afectó estadísticamente la concentración de N-NH₃, lactato, ácidos grasos volátiles totales ($P > 0,11$). Mientras que la suplementación afectó significativamente la proporción molar de acetato, propionato, butirato, isovalerato y valerato ($P < 0,01$). La relación acetato: propionato disminuyó linealmente ($P < 0,01$) en respuesta al aumento en la suplementación con DDGS. *Experimento II.* El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la suplementación de *Panicum máximum* (cv. Gatton panic) con DDGS sobre la performance animal y la emisión de metano. Se utilizaron 30 terneras Braford, en 6 grupos de 5 animales por corral (unidad experimental, 2 por tratamiento). Se aplicaron los mismos tratamientos utilizados para el Experimento I. El consumo de materia seca total aumentó (Cuadrático; $P < 0,01$) con la suplementación, mientras que el consumo de forraje disminuyó linealmente ($P < 0,01$). El consumo de PB y EE aumentaron linealmente ($P < 0,01$), mientras que los consumos FDN y FDA lo hicieron de forma exponencial ($P < 0,01$). Por su parte, la ganancia media diaria (g/d) se incrementó (Lineal, $P = 0,02$) con la suplementación. No hubo diferencias entre tratamientos en cuanto a producción de metano tanto en g CH₄/d como en g CH₄/kg CMS, aunque la intensidad de metano disminuyó al incrementar la producción animal por la suplementación. Se concluye que la suplementación de forraje de baja calidad con DDGS permite mejorar la utilización del forraje, la ganancia de peso y reducir emisión de metano entérico por kg de peso vivo producido. Además, la inclusión dietaria de DDGS alteró favorablemente el perfil de AGV, incrementando la proporción ruminal de propiónico, aunque no se observó ningún efecto asociativo positivo o negativo sobre la digestibilidad de la fibra del heno.

Palabras clave: Forrajes de baja calidad, Granos secos de destilería de maíz con solubles, Metano, Fermentación ruminal, Digestión

ABSTRACT

Energy and protein supplementation of low quality forages is a necessary practice in order to achieve a suitable animal performance in livestock systems based on tropical pastures during the dry season. In Argentina, the current development and potential for future expansion of the maize bioethanol industry arises like a regional alternative to replace traditional supplements by dried distillery grains with solubles (DDGS). In this regard, DDGS by their nutritional composition represent an excellent source to correct N deficiencies, low digestibility and intake, which limit animal performance during winter. While DDGS provide protein and energy, there is an important supply of ether extract, which could alter productive response and modulate ruminal fermentation affecting fiber utilization and methanogenesis. The aim of this series of studies was to evaluate the effect of DDGS supplementation on dry matter intake, digestibility, animal performance and enteric methane emissions on low quality *Panicum maximum* (cv. Gatton panic). *Experiment I.* In this work was evaluated the impact of DDGS supplementation on low quality *Panicum maximum* (cv Gatton panic) hay on forage utilization and ruminal profile of Braford crossbred steers. Twelve steers (9 rumen-cannulated and 3 non-cannulated) were used for this experiment, allocated in individual pens. Treatments consisted in supplementation of low quality *Panicum maximum* (cv. Gatton panic) hay with 3 levels of DDGS: 0 (non-supplemented), 6: supplemented with 6 g DDGS/ kg BW y 12: supplemented with 12 g DDGS/ kg BW. DDGS supplementation increased linearly ($P < 0.01$) total organic matter intake (TOMI), crude protein intake (CPI) and neutral detergent fiber intake (NDFI), while no effect was observed on acid detergent intake (ADFI), all expressed as g/kg BW^{0.75}. Ether extract intake (EEI) showed a linear increase ($P < 0.01$) as DDGS supplementation increased. On the other hand, forage OM intake (FOMI) decreased (Linear; $P < 0.01$) as DDGS supplementation level increased. Total tract OM, CP and EE digestibility increased with supplementation (Linear; $P < 0.01$), while NDF digestibility had a linear tendency to linearly increase ($P = 0.07$) as a response to raising DDGS level. Digestible OM intake (DOMI), digestible CP intake (DCPI), digestible NDF intake (DNDFI) and digestible ADF (DAFI) increased (Linear; $P < 0.01$) as supplementation increased. No differences were observed on solid passage rate among treatments ($P = 0.43$). Ruminal pH decreased linearly to increasing DDGS supplementation levels ($P < 0.01$). However,

supplementation did not statistically affect ruminal N-NH₃, lactate, and total volatile fatty acids ($P > 0.11$). While supplementation significantly affected molar proportions of acetate, propionate, butyrate, isovalerate, and valerate ($P < 0.01$). Acetate: propionate ratio linearly decreased ($P < 0.01$) in response to DDGS supplementation.

Experiment II. The aim of this study was to evaluate the effect of DDGS supplementation on low quality *Panicum maximum* (cv. Gatton panic) hay on animal performance and methane emissions. Thirty Braford crossbred female calves were assigned to 6 groups of 5 animals each (Experimental unit: 2 groups per treatment). The treatments were the same utilized in Experiment 1. TOMI increased quadratically ($P < 0.01$) with supplementation, while FOMI decreased linearly ($P < 0.01$). Both CPI and EEI increased linearly ($P < 0.01$), while NDFI and ADFI both increased exponentially ($P < 0.01$). For its part, ADG (g/d) increased (Linear, $P = 0.02$) with the supplementation. There were no differences among treatments regarding to methane production in g CH₄/d as well as in g CH₄/kg DMI, although the methane intensity decreased when increasing animal production by the supplementation. It is concluded that DDGS supplementation on low quality forages allows to improve forage utilization, average daily gain, and reduce enteric methane emission by kg of live weight produced. In addition, including DDGS in the diet positively altered the volatile fatty acid profile, increasing ruminal proportion of propionate, although there is no positive or negative associative effect on hay fiber digestion.

Key words: Low-quality forages, Corn dried distiller's grains with solubles, Methane, Ruminal fermentation, Digestion.

INDICE GENERAL

Resumen.....	ii
Abstract	iv
Índice general	vi
Índice de tablas	x
Índice de figuras	xi
Listado de abreviaturas	xii
Capítulo I. Introducción y Revisión de Antecedentes	1
1. Introducción.....	1
2. Revisión de Antecedentes	3
2.1. Forrajes de baja calidad	3
2.2. Granos de destilería con solubles secos (DDGS)	4
2.2.1. Producción de bioetanol de maíz en la Argentina	4
2.2.2. Caracterización de granos de destilería con solubles	6
Energía	7
Proteína	8
Fibra	9
Lípidos	9
3. Suplementación y utilización de forrajes de baja calidad	11
3.1. Suplementación proteica	11
3.1.1. Suplementación proteica en forrajes de baja calidad en el	
Norte de Argentina.....	13
3.2. Suplementación con carbohidratos	14

3.3. Suplementación con lípidos	16
3.4. Suplementación con DDGS en forrajes de baja calidad	17
4. Emisiones de metano	19
4.1. Metanogénesis ruminal	19
4.2. Producción de metano en función del consumo	20
4.3. Producción de metano en forrajes de baja calidad	21
4.4. Suplementación proteica y producción de metano	22
4.5. Suplementación con carbohidratos y producción de metano	24
4.6. Efecto del pH sobre la metanogénesis	25
4.7. Efecto de los lípidos sobre la metanogénesis	26
Capítulo II. Hipótesis y Objetivos	27
1. Hipótesis	27
2. Objetivos	28
2.1. Objetivo General	28
2.2. Objetivos Específicos	28
Capítulo III. Experimento 1. SUPLEMENTACION DE FORRAJE DE BAJA CALIDAD DE <i>Panicum maximum</i> (cv. Gatton) CON GRANOS SECOS DE DESTILERÍA DE MAÍZ CON SOLUBLES: CONSUMO, DIGESTION, Y PARAMETROS FERMENTATIVOS RUMINALES	29
1. Introducción	30
2. Materiales y métodos	32
2.1. Animales, alojamiento y diseño experimental	32
2.2. Tratamientos y composición de la dieta	32
2.3. Muestreo de heno, suplementos, rechazos y contenido ruminal.....	33
2.4. Perfil ruminal	33

2.5. Análisis de laboratorio	34
2.6. Cálculos	35
2.7. Análisis estadísticos	35
3. Resultados	36
3.1. Consumo y digestión aparente del tracto digestivo total	36
3.2. Perfil ruminal	40
3.3. Llenado ruminal y tasa de pasaje sólida	41
4. Discusión	42
5. Conclusiones	47
Capítulo IV. Experimento 2. SUPLEMENTACION DE FORRAJE DE BAJA CALIDAD DE <i>Panicum maximum</i> (cv. Gatton) CON GRANOS SECOS DE DESTILERÍA DE MAÍZ CON SOLUBLES: DESEMPEÑO PRODUCTIVO ANIMAL Y PRODUCCIÓN DE METANO ENTÉRICO	
.....	49
1. Introducción	50
2. Materiales y métodos	52
2.1. Animales, alojamiento y diseño experimental	52
2.2. Tratamientos y composición de la dieta	52
2.3. Consumo y ganancia de peso vivo	53
2.4. Medición de la producción de metano	53
2.5. Análisis de laboratorio	55
2.6. Análisis estadísticos	55
3. Resultados	56
3.1. Cambio de peso vivo y consumo	56
3.2. Producción de metano	57
4. Discusión	58
5. Conclusión	61
Capítulo V. Conclusión general	63
Capítulo VI. Bibliografía	64

Anexo I. Figuras adicionales91

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de granos secos de destilería de maíz (DDGS) de diferentes plantas, años y fuentes	7
Tabla 2. Descripción de los componentes de la fibra de grano y DDGS de maíz.....	9
Tabla 3. Perfil de ácidos grasos de DDGS de diferentes fuentes	10
Tabla 1. Análisis de composición química de heno de <i>Panicum máximo</i> (cv. <i>Gatton</i>) y granos secos de destilería con solubles	33
Tabla 2. Efecto de la suplementación con granos secos de destilería (DDGS) sobre el consumo total, de heno y de nutrientes individuales de novillos alimentados con heno de <i>Panicum maximum</i> (cv. <i>Gatton</i>) diferido.....	37
Tabla 3. Efecto de la suplementación con granos secos de destilería sobre parámetros de fermentación ruminal de novillos alimentados con heno de <i>Panicum maximum</i> (cv. <i>Gatton</i>)	41
Tabla 4. Efecto de la suplementación con granos secos de destilería sobre el llenado ruminal y la tasa de pasaje sólida de novillos alimentados con heno de <i>Panicum maximum</i> (cv. <i>Gatton</i>)	42
Tabla 1. Composición química del heno de <i>Panicum maximum</i> (cv. <i>Gatton</i>) y granos secos de destilería con solubles (DDGS)	52
Tabla 2. Efecto de la suplementación con granos secos de destilería sobre el consumo y performance de recría de terneras consumiendo heno de <i>Panicum maximum</i> (cv. <i>Gatton</i>)	57
Tabla 3. Efecto de la suplementación con DDGS de forraje de baja calidad de <i>Panicum maximum</i> (cv. <i>Gatton</i>) sobre la producción de metano entérico	58

ÍNDICE DE FIGURAS

<p>Figura 1. Esquema convencional de molienda seca de maíz para la producción de etanol 6</p>	6
<p>Figura 1. Efecto del nivel de suplementación de heno de <i>Panicum maximum</i> (cv. <i>Gatton</i>) con granos de destilería de maíz con solubles (DDGS) sobre la digestibilidad de MO (DMO), proteína bruta (DPB), extracto etéreo (DEE) fibra detergente neutro (DFDN) y fibra detergente ácido (DFDA) 38</p>	38
<p>Figura 2. Efecto del nivel de suplementación de heno de <i>Panicum maximum</i> (cv. <i>Gatton</i>) con granos secos de destilería de maíz (DDGS) sobre el consumo de materia orgánica (MO), proteína bruta (PB), fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) digestibles. 39</p>	39

LISTADO DE ABREVIATURAS

AGV: Ácidos grasos volátiles
AMD: Aumento medio diario de peso vivo
AOAC: Asociación de Químicos Analíticos Oficiales
BH: Biohidrogenación
Ca: Calcio
CH₄: Gas metano
CIDA: Cenizas indigestibles en detergente ácido
CMO: Consumo de materia orgánica
CMOD: Consumo de materia orgánica digestible
CMS: Consumo de materia seca
CNF: Carbohidratos no fibrosos
CO₂: Dióxido de carbono
COP: Conferencia sobre cambio climático (Conferences of the Parties)
cv: Cultivar
D.I.: Diámetro interno
DMS: Digestibilidad de la materia seca
DDGS: Granos secos de destilería con solubles
EB: Energía bruta
ECD: Detector de captura de electrones
EM: Energía metabolizable
EE: Extracto etéreo
FAD: Flavín adenin dinucleótido
FADH⁺⁺: Flavín adenin dinucleótido reducido
FDA: Fibra detergente ácido
FDN: Fibra detergente neutro
FID: Detector de ionización de llama
GEI: Gases de efecto invernadero
H₂: Hidrógeno
HCl: Ácido clorhídrico
INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
LDA: Lignina detergente ácido
mM: milimolar
MO: Materia orgánica
MOD: Materia orgánica digestible
MS: Materia seca
MW: Peso molecular
N: Nitrógeno
NAD: Nicotinamida adenina dinucleótido
NADH⁺: Nicotinamida adenina dinucleótido reducido

NEA: Noreste argentino
NH₄: Amonio
N-NH₃: Nitrógeno amoniacal
NNP: Nitrógeno no proteico
NOA: Noroeste argentino
NRC: National Research Council
P: Fósforo
PB: Proteína bruta
PDR: Proteína degradable en rumen
PM: Proteína metabolizable
PNDR: Proteína no degradable en rumen
PR: Tasa de liberación (permeation rate)
PV: Peso vivo
PV^{0,75}: Peso metabólico
PVC: Policloruro de vinilo
S: Azufre
SENASA: Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria
SF₆: Hexafluoruro de azufre
TND: Total de nutrientes digestibles
WDGS: Granos húmedos de destilería con solubles

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN Y REVISION DE ANTECEDENTES

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente la producción ganadera mundial y nacional – como otras actividades antropogénicas – se enfrenta al desafío futuro de garantizar la provisión de alimentos minimizando la emisión de gases de efecto invernadero (GEI; COP21, 2015) que influyen sobre el calentamiento global. El GEI mas importante producido por los rumiantes es el metano (CH₄) como consecuencia del proceso de digestión anaeróbica ruminal, que además representa una vía de pérdida de la energía contenida en los alimentos. Las emisiones de GEI ligadas a la producción ganadera, y en especial las de metano (CH₄), constituyen entre el 8 y el 28 % del total de las emisiones de GEI de origen antropogénico global (Steinfeld *et al.*, 2006; Beauchemin *et al.*, 2008; O'Mara, 2011). En la ganadería de regiones áridas y semiáridas subtropicales del mundo la base de alimentación del ganado (*e.g.*, gramíneas megatérmicas, C₄) es de mayor potencial de emisión de metano que en regiones templadas (Archimède *et al.*, 2011). En estas regiones, la necesidad de estimaciones de emisión de metano es aún de mayor relevancia debido a la carencia de estimaciones en razas índicas (*Bos indicus*) y cruza índicas (*Bos indicus* × *Bos taurus*) por una parte, y a la escases de información en forrajes tropicales (McCrabb y Hunter, 1999).

La ganadería subtropical de Argentina (NEA y NOA) representa en la actualidad aproximadamente el 34 % (SENASA, 2014) del stock bovino nacional. En la región NOA en particular, la ganadería es mayormente basada en pasturas megatérmicas introducidas – principalmente *Panicum maximum* (cv. Gatton) que se caracterizan por tener una oferta de forraje concentrada en el verano (más del 60 %), y baja calidad del forraje diferido al invierno (Cornacchione *et al.*, 2008), factores que juegan un rol preponderante sobre el manejo y la productividad de dichos sistemas. La baja digestibilidad y consumo del forraje invernal es la primer limitante para la producción animal (Goes *et al.*, 2010; Valente *et al.*, 2011), bajo estas condiciones los animales no

logran cubrir sus requerimientos nutricionales debido a un bajo contenido tanto proteico como energético (Moore *et al.*, 1999; DelCurto *et al.*, 2000; Añez-Osuna *et al.*, 2015).

En este sentido, se ha demostrado que la suplementación con proteína y energía mejora la productividad en animales que consumen forrajes de baja calidad (Caton y Dhuyvetter, 1997; Moore *et al.*, 1999; DelCurto *et al.*, 2000). La suplementación proteica (Kunkel, 2011) de este tipo de forrajes, cubre las deficiencias de nitrógeno ruminal e incrementa la utilización del mismo. Esto se traduce en una mayor disponibilidad de energía permitiendo incrementar la productividad animal (Mathis *et al.*, 2000; Bandyk *et al.*, 2001; Wickersham *et al.*, 2004). Tradicionalmente la suplementación proteica de forrajes de baja calidad se realiza con co-productos derivados de la industria oleaginosa de elevado tenor proteico o mediante el uso de fuentes de NNP (ej., urea), los cuales son complementados con alimentos ricos en carbohidratos no fibrosos (CNF; ej., almidón, azúcares) como fuente de energía. Sin embargo, con el desarrollo de la industria del bioetanol a partir de maíz, en la actualidad surge la disponibilidad de los granos de destilería (DDGS) como co-productos ricos en proteína y energía con gran potencial de utilización en la suplementación de este tipo de forrajes y se perfila en un futuro cercano como una fuente que puede reemplazar total o parcialmente los suplementos tradicionales a base de granos y co-productos oleaginosos. Si bien los DDGS son ricos en energía, el mismo es mediante un elevado aporte de fibra digestible y lípidos.

Consecuentemente, para hacer una apropiada valoración y utilización de estos co-productos en términos de eficiencia productiva y emisión de metano entérico surge la necesidad de evaluar la interacción entre este tipo de suplementos con los forrajes regionales.

2. REVISION DE ANTECEDENTES

2.1. Forrajes de baja calidad

Los forrajes de baja calidad son definidos como aquellos en que la digestibilidad de la materia seca (DMS) es inferior al 55 % y el contenido proteico menor a 8 %, con alta proporción de pared celular lignificada y bajo contenido de azúcares solubles y almidón (< 100 g/ kg; Leng, 1990). No obstante lo cual, existe un rango de variación en DMS de 35 – 55 %, y contenidos de PB que oscilan entre 3 - 7 %. En las pasturas tropicales, durante la estación seca ocurre un drástico descenso en la calidad nutricional, principalmente debido a una disminución en PB (Detmann *et al.*, 2014) y un incremento significativo de la pared celular (Wilson, 1994). En la región NOA, las precipitaciones se concentran en el período estival, esto lleva a que haya forraje de buen valor nutritivo durante la corta estación lluviosa que permite buenas ganancias de peso vivo, pero luego cambia progresivamente a niveles de mantenimiento o subnutrición con pasturas maduras durante la estación seca (Cornacchione *et al.*, 2008). Por otro lado, las pasturas tropicales (metabolismo C₄) generalmente son más fibrosas, contienen menores niveles de PB, energía metabolizable (EM), y tienen un descenso mayor de su calidad en el tiempo comparadas con pasturas templadas (metabolismo C₃) (Dixon y Coates, 2010).

El limitado contenido en PB es un punto crítico para una adecuada utilización de los carbohidratos fibrosos del forraje base (Hennessy *et al.*, 1983; Leng, 1990), lo cual resulta en una disminución en el consumo de materia seca (CMS) y la performance animal (Egan y Doyle, 1985; Leng, 1990; Paulino *et al.*, 2008). Milford y Minson (1965) observaron que el consumo voluntario de pasturas tropicales disminuía marcadamente cuando la PB del forraje caía por debajo del 7 %. Bajo estas condiciones, la suplementación nitrogenada es una herramienta clave para mejorar la utilización del forraje de baja calidad (Leng, 1990; Sampaio *et al.*, 2010; Souza *et al.*, 2010).

2.2. Granos secos de destilería con solubles (DDGS)

2.2.1. Producción de bioetanol a base de maíz en Argentina

La producción anual de maíz en Argentina, en promedio ronda las 23,8 millones de toneladas (IERAL, 2014), de las cuales 12 millones se destinan a uso interno (industrialización y producción animal); y el resto a exportación sin procesamiento o guardándose como stocks (MinAgri, 2014). En la actualidad Argentina cuenta con 6 plantas agroindustriales, alcanzando una producción promedio anual de 484.500 m³ de bioetanol y entre 1,2 a 1,4 millones de toneladas de maíz procesado (Bolsa de Comercio de Rosario, 2014). En los últimos años en nuestro país la industria de los biocombustibles a partir de la producción de etanol de maíz ha tenido un desarrollo importante, aunque aún no abundan estudios sobre el uso de estos co-productos como suplementos de forrajes en bovinos para carne. Por su valor nutricional estos co-productos se perfilan en un futuro cercano a ser una fuente de suplementación que podría sustituir en parte a los suplementos tradicionales (*e.g.*, granos de cereales, harinas de oleaginosas, etc.).

El proceso de obtención de bioetanol (Figura 1) comienza por la etapa de molienda, que puede ser de dos tipos: Húmeda y Seca (Galbe y Zacchi, 2002). En la mayoría de las plantas de producción de etanol se usa molienda seca, ya que es más flexible que la molienda húmeda en cuanto a tipo y calidad de grano a utilizar (Stock *et al.*, 2000). La molienda húmeda es un proceso más complejo (Kononoff y Erickson, 2006). En un proceso convencional se muele el grano para formar una harina gruesa (Nuttelman, 2013), luego se mezcla con agua para formar una pasta (Barragán Ramírez *et al.*, 2008). La pasta se calienta a 120°C durante 20 min y pasa a una cámara de flash para el proceso de licuefacción (Bothast y Schlicher, 2005), por 30 min a 80 – 90° C y se agregan α -amilasas para reducir el tamaño de los polímeros de almidón (US Grain Council 2012). La pasta se enfría y se ajusta a pH 4,5 mediante el agregado de ácido sulfúrico (Uwituze *et al.*, 2011) y se agregan glucoamilasas para convertir el almidón licuado a glucosa. La glucosa es el único sustrato que pueden utilizar las levaduras para el proceso de fermentación, convirtiendo azúcares simples en etanol y CO₂ en un ambiente anaeróbico (Beliveau, 2008). La actividad de las levaduras durante la fermentación, es altamente dependiente de la temperatura (US Grain Council 2012). Como consecuencia de la necesidad de ajuste de pH, el contenido de azufre en estos co-productos es elevado y variable, 0,33 a 0,74% MS entre DDGS (Spiehs *et al.*, 2002; Holt y Pritchard, 2004), y 0,36 - 0,60 % MS en granos húmedos de destilería con

solubles (WDGS; en inglés: *wet distillers grain plus solubles*; Holt y Pritchard, 2004; Buckner *et al.*, 2011). El elevado consumo de azufre en rumiantes genera toxicidad que se manifiesta subclínicamente con reducción de consumo y desempeño animal (Holt y Pritchard, 2004; Buckner *et al.*, 2011), y clínicamente como poliencfalomalacia (Gould, 1998).

Una vez finalizada la fermentación, se realiza la destilación fraccional para extraer el etanol para su siguiente procesamiento (Beliveau, 2008). El agua extraída contiene nutrientes y otros sólidos y se conoce como vinaza fina que es desecada mediante un evaporador para remover gran parte del agua contenida. El remanente de nutrientes y sólidos se conoce como “jarabe”, que se combina con granos húmedos de destilería. Posteriormente, esta mezcla se seca para producir el denominado “granos secos de destilería con solubles” (en inglés *dried distiller`s grains plus solubles*, DDGS; Prevost y Hammond, 2004).

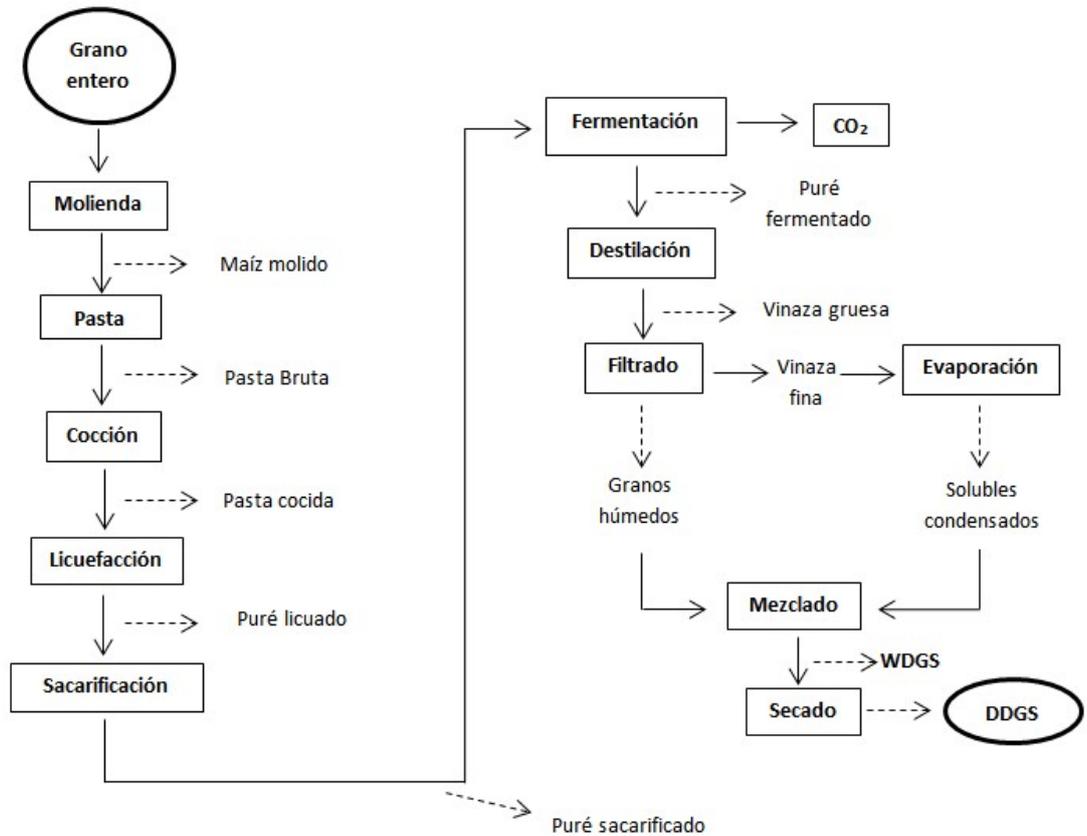


Figura 1. Esquema convencional de molienda seca de maíz para la producción de etanol (Adaptado de Liu, 2011)

2.2.2. Caracterización de los granos secos de destilería con solubles (DDGS)

En la producción de bioetanol aproximadamente el 94 % del almidón del grano es consumido, lo que hace que se triplique la concentración de los nutrientes que no son fermentados (Ej., proteína, grasa y fibra; Klopfenstein *et al.*, 2008). En consecuencia, el contenido de PB, fibra detergente neutro (FDN), y grasa en los destilados de la molienda seca de maíz alcanza valores de 26 - 36 %, 30 - 50 %, y 9 - 16 % respectivamente (NRC, 1996; NRC, 2001). Todas las plantas de bioetanol producen WDGS (65 a 69 % humedad) o los DDGS por secado (8 a 12 % humedad; Bremer *et al.*, 2011).

En la Tabla 1 se muestran valores de referencia de la composición química de DDGS publicadas en diversos trabajos.

Tabla 1. Composición química de granos secos de destilería de maíz (DDGS) de diferentes plantas, años y fuentes

ítem	Fuente				
	McGinn <i>et al.</i> , 2009	Winterholler <i>et al.</i> , 2009*	Uwituze <i>et al.</i> , 2010	Li <i>et al.</i> , 2012	Kerr <i>et al.</i> , 2013**
MS, %	47,50 ± 4,60	ND	90,00	95,20	87,00 ± 1,39
EB, Mcal/kg	4,87 ± 0,07	ND	ND	ND	5,02 ± 0,09
PB, %	17,40 ± 0,50	31,90 ± 1,84	29,00	30,20	30,60 ± 1,53
EE, %	5,10 ± 0,50	11,90 ± 1,84	10,10	11,50	10,62 ± 1,26
Almidón, %	-	ND	5,80	5,70	1,88 ± 1,06
FDN, %	42,40 ± 2,60	40,30 ± 6,36	35,30	31,00	36,31 ± 3,89
FDA, %	24,70 ± 2,20	16,90 ± 0,99	ND	10,80	12,41 ± 1,52
TND, %	-	81,85 ± 1,20	ND	ND	ND
Cenizas, %	-	ND	ND	0,50	4,89 ± 0,33
Ca %	-	0,04 ± 0,01	ND	0,04	ND
P, %	-	0,82 ± 0,06	ND	0,83	0,82 ± 0,07
S, %	-	0,56 ± 0,05	ND	ND	0,78 ± 0,21

Energía

El contenido de energía de los co-productos depende del tipo de molienda. En caso de molienda húmeda (Gluten feed) el contenido energético es similar o inferior al de los granos (NRC, 1996), mientras que en los co-productos de molienda seca el contenido en general es superior al de los granos (Arroquy *et al.*, 2014). Hay dos factores principales que explican el mayor valor energético de los co-productos del bioetanol por sobre el grano de maíz (Beliveau, 2008): el incremento en el contenido de lípidos y el incremento en fibra de alta digestibilidad (Larson *et al.*, 1993; Klopfenstein *et al.*, 2008). En un análisis de varios estudios de inclusión dietaria de DDGS, Stock *et al.* (2000) concluyeron que los DDGS tienen un valor energético medio 9 % superior al del grano de maíz.

Proteína

En el proceso de destilación el contenido de proteína bruta del grano de maíz se incrementa en promedio, de 9 % a 27 % (Stock *et al.*, 2000). El aporte de proteína de un alimento para rumiantes se divide en dos fracciones principales: proteína degradable (PDR) y proteína no degradable en rumen (PNDR; NRC, 1985). La PDR es la fracción que se degrada ruminalmente, y está constituida por proteína verdadera o nitrógeno no proteico (*e.g.*, nucleótidos, urea, etc.). El N liberado de la fracción de PDR (*i.e.*, aminoácidos y amonio) es utilizado para re-síntetizar proteína microbiana ruminal (NRC, 1981). La PNDR es la fracción de proteína resistente a la digestión ruminal, y es digerida y absorbida en el tracto digestivo inferior. Los requerimientos proteicos en animales en crecimiento y la mayoría de las categorías de bovinos para carne no tienen altos requerimientos de PNDR (Van Soest, 1994), excepto en animales muy jóvenes o vacas lecheras en lactancia (NRC, 2000). En los DDGS, el porcentaje de PNDR es generalmente superior a los concentrados proteicos de origen vegetal utilizados tradicionalmente (*e.g.*, harinas y expellers de soja y/o girasol; Aines *et al.*, 1986). No obstante, estudios previos (Cao *et al.*, 2009; Leupp *et al.*, 2009; Brake *et al.*, 2010; Islas y Soto-Navarro, 2011) muestran que su contenido de PNDR varía entre 40 y 70 % de PNDR/PB. Mientras que el aporte de PDR varía entre 30 y 60 % PDR/PB (Cao *et al.*, 2009; Leupp *et al.*, 2009; Brake *et al.*, 2010; Islas y Soto-Navarro, 2011). Esta variación está asociada al tipo de materia prima y al método de procesamiento (Gunn *et al.*, 2009; Hersom *et al.*, 2010), como así también al contenido de solubles recuperados en los residuos sólidos del grano en la mezcla en los DDGS (Cao *et al.*, 2009). En principio, la baja degradabilidad ruminal de la principal proteína del maíz (McDonald, 1954; ~40 %), la zeína (Klopfenstein *et al.*, 2008), contribuye a que los DDGS tengan elevado contenido de PNDR. Durante el proceso de producción de etanol, el tratamiento térmico de gelatinización para favorecer la acción de las amilasas y la fermentación por las levaduras (Beliveau, 2008) puede desnaturalizar las proteínas, haciéndolas resistentes a la degradación ruminal. Por otra parte, en el proceso de secado de WDGS para obtener DDGS, también se puede reducir la solubilidad de las proteínas mediante la formación de compuestos de Maillard, incrementando el contenido de PNDR o pasante (McKinnon *et al.*, 1991; Boila e Ingalls 1994; Klopfenstein, 1996).

Fibra

Los DDGS basados en granos de maíz contienen entre 40 a 45 % de fibra total (en base seca; Beliveau, 2008), con una proporción de FDN entre 30,7 y 40,3 % (NRC, 2000) y compone la mayor parte de los carbohidratos de los DDGS (Klopfenstein *et al.*, 2008). El pericarpio del grano de maíz está constituido principalmente por FDN (69 %) de alta extensión (79 a 84 %; Sayer 2004) y tasa de digestión (6.2%/ h; DeHaan *et al.*, 1983). En la Tabla 2 se muestra la composición de la fibra del grano de maíz y de los DDGS obtenida de diversas fuentes, donde se puede observar que es variable al igual que el contenido de proteína, y depende del tipo de materia prima y del procesamiento (Gunn *et al.*, 2009; Hersom *et al.*, 2010). La fracción mayoritaria de carbohidratos estructurales que componen la FDN de DDGS es la hemicelulosa.

Tabla 2. Descripción de los componentes de la fibra de grano y DDGS de maíz

Fuente	Alimento	Componente de la fibra (% MS)		
		Celulosa	Hemicelulosa	Lignina
Nuez-Ortín e Yu, 2009	Grano de maíz	3,11	10,82	0,54
	DDGS	11,88	34,78	2,80
Erickson <i>et al.</i> , 2012	DDGS	12,00	17,00	5,00
Anderson <i>et al.</i> , 2012*	DDGS	9,6 ± 1,51	25,86 ± 2,66	1,61 ± 1,04

*Evaluó los DDGS de diferentes plantas de producción de etanol (promedio ± desvíos).

Lípidos

Los ácidos grasos son los componentes principales de los lípidos, y en las dietas de rumiantes son normalmente bajos (1-4%; Van Soest, 1994).

El contenido de lípidos en los DDGS varía entre 11 y 12 % de extracto etéreo (Lodge *et al.*, 1997) con alta concentración de ácidos grasos poliinsaturados (Aldai *et al.*, 2012).

En la Tabla 3 se presenta una breve revisión de trabajos donde se analiza el perfil de ácidos grasos de los DDGS, y puede observarse que en el perfil de ácidos grasos de cadena larga predominan los insaturados (~80%).

Tabla 3. Perfil de ácidos grasos de DDGS de diferentes fuentes

ítem	Fuente		
	Ranathunga <i>et al.</i> , 2010	Tang <i>et al.</i> , 2011	Kerr <i>et al.</i> , 2013*
Ácidos grasos (g/100 g de ácidos grasos totales)			
Mirístico (14:0)	0,42	0,07	0,07 ± 0,01
Palmitico (16:0)	14,70	16,70	14,28 ± 0,47
Palmitoléico (16:1)	0,13	0,16	0,14 ± 0,01
Esteárico (18:0)	1,99	2,62	2,12 ± 0,17
Oléico (18:1)	26,90	23,10	25,78 ± 0,68
Linoléico (18:2)	50,70	53,70	54,13 ± 0,86
Linolénico (18:3)	1,60	0,45	1,62 ± 0,11
Ácidos grasos saturados (% MS)	18,00	22,00	18,33
Ácidos grasos insaturados (%MS)	82,00	78,00	81,67

* Evaluó Composición química de DDGS de 11 fuentes diferentes.

El elevado contenido de extracto etéreo puede afectar la digestibilidad de las fracciones fibrosas de la dieta. El impacto negativo que ejercen niveles elevados de grasa sobre la digestibilidad de la fibra ha sido bien documentado (Beauchemin *et al.*, 2007; Montgomery *et al.*, 2008; Martínez Marín *et al.*, 2011). Por otra parte, aportes de grasa no protegida superiores a 4 % afecta negativamente la digestibilidad de la fibra (Martínez Marín *et al.*, 2011). Por lo tanto, el elevado contenido de lípidos de los DDGS puede ser una restricción para su utilización como suplemento de forrajes, limitando el consumo (MacDonald *et al.*, 2007) y afectando negativamente la digestión de la fibra (Hess *et al.*, 2008).

3. Suplementación y utilización de forrajes de baja calidad

3.1. Suplementación proteica

La suplementación proteica de forrajes deficientes en N en rumiantes tiene dos objetivos principales, cubrir los requerimientos de N de los microorganismos ruminales

y el estatus nitrogenado del animal mediante el aporte de proteína metabolizable (PM). El NRC (1996) define a la PM como la proteína verdadera que es absorbida por el intestino, provista tanto por el PNDR o by pass y la proteína microbiana (puede proveer entre 50 a 100 % de la PM requerida).

La suplementación proteica de forrajes de baja calidad es una práctica de rutina en la producción ganadera bovina, particularmente en animales que pastorean pasturas de baja calidad (Clanton, 1982), donde hay limitaciones en el consumo voluntario y en la digestibilidad (Rittenhouse *et al.*, 1970). La suplementación proteica estimula el consumo de materia orgánica digestible (MOD), mejora el status energético incrementando la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y los niveles proteicos aumentando el flujo de proteína microbiana al duodeno (Scott y Hibberd, 1990; Wickersham *et al.*, 2008; Stefan, 2013).

Varios estudios han documentado el efecto positivo de la suplementación proteica sobre el consumo de forraje (DelCurto *et al.*, 1990a,b). Este incremento está asociado a una mejora en la digestión del forraje y a un incremento en la tasa de pasaje (McCollum y Galyean 1985; Beaty *et al.*, 1994; Mathis *et al.*, 1999).

Está ampliamente documentado que la deficiencia de proteína degradable en rumen (PDR) es la principal limitante para mejorar la utilización de forrajes de baja calidad (Köster *et al.*, 1996; Mathis *et al.*, 1999; Bandyk *et al.*, 2001). En este aspecto, el suministro de pequeñas cantidades relativas de PDR incrementa significativamente el consumo de materia orgánica digestible y la utilización del forraje (McCollum y Galyean, 1985; DelCurto *et al.*, 1990b; Arroquy *et al.*, 2004), lo cual se ve reflejado en un mejoramiento sustancial del desempeño animal (Marston *et al.*, 1995; Banta *et al.*, 2006; Steele *et al.*, 2007). La mayoría de las respuestas a la suplementación proteica se observan cuando el contenido de PB del forraje es menor a 8 % (Bohnert y del Curto, 2003). El aporte de N ruminal no solo depende de la PDR sino también del reciclado de N en forma de urea (Van Soest, 1994). Por su parte, la PNDR puede potencialmente contribuir de forma significativa para mejorar el estatus nitrogenado del animal e incrementar la tasa de digestión y pasaje como resultado del reciclado de N (NRC, 1985), aunque la suplementación con PNDR es menos eficiente que la PDR (Bandyk *et al.*, 2001; Stefan, 2013). Wickersham *et al.* (2004) evaluaron la respuesta a la

suplementación con PDR combinada con y sin PNDR (infusión intra-gástrica de caseína) sobre la utilización de forraje de baja calidad. Los autores concluyeron que la infusión posruminal de proteína incrementó el consumo de MO digestible, pero en menor magnitud que la respuesta observada para el mismo nivel de PDR solamente.

Una vez corregida la deficiencia de N para optimizar el uso del forraje basal, se requiere de un incremento en consumo de energía y proteína metabolizable (PM) para obtener niveles de ganancia de peso superiores. El aumento directo en la PM se genera mediante el suministro de suplementos con mayor proporción de PNDR. En este sentido, se ha reportado que la suplementación con suplementos proteicos con más de 50 % de PNDR/PB mejoró la performance reproductiva y redujo la pérdida de peso en vacas de cría durante el invierno (Dhuyvetter *et al.*, 1993). Lalman *et al.* (1993), por su parte, reportaron que cambios en la relación PNDR y PDR influye sobre la edad y peso a la pubertad en terneras de reposición. Estos autores, también sugirieron que el suministro de PNDR en exceso respecto a los requerimientos recomendados por NRC puede mejorar el uso de la energía.

3.1.1. Suplementación proteica en forrajes de baja calidad en el norte de Argentina

En las regiones áridas y semiáridas del norte de Argentina, las pasturas tanto naturales como implantadas están compuestas principalmente por gramíneas de tipo C4 o tropicales, de crecimiento estival y rápida maduración (Cornacchione *et al.*, 2008). En contraste, durante el período invernal la falta de cantidad y baja calidad del forraje se acentúan, principalmente por el bajo contenido proteico (4 a 6 % PB; Slanac *et al.*, 2007) y baja digestibilidad (< 55 %, Leng, 1990), lo cual puede disminuir marcadamente la productividad de bovinos para carne (López *et al.*, 2014). En este sentido, Slanac *et al.* (2007) sugieren que durante este período del año, una suplementación estratégica permite mejorar la productividad de los animales, la eficiencia de conversión del forraje base y el acortamiento de los ciclos de recría y engorde.

Existe abundante información acerca de respuesta positiva a la suplementación proteica sobre gramíneas tropicales diferidas durante el invierno en el Norte de Argentina (Balbuena, 1998, Chaparro, 1998, Sampedro, 1998), en términos de ganancia de peso vivo (individual y por ha), utilizando diferentes suplementos proteicos – semilla de algodón (Balbuena, 1998; Salado y Fumagalli, 2003), harina de algodón (Kucseva, 2001, Slanac *et al.*, 2007) , afrechillo de trigo (Balbuena *et al.*, 2003a), expeller de algodón (Balbuena *et al.*, 2003b) cáscara de soja (Kucseva *et al.*, 2013), grano de soja (Balbuena *et al.*, 2012), harina de soja (López *et al.*, 2014).

En un trabajo realizado por Kucseva *et al.* (2001) sobre suplementación con semilla de algodón (18 % PB, 20 % EE) a niveles de 0; 0,15; 0,3 y 0,45 % PV y heno de pasto estrella (3,9 % PB) reportaron incrementos en el consumo de heno, total, como así también en la ganancia de peso. Posteriormente, en un trabajo similar, Balbuena *et al.* (2002) en novillitos consumiendo heno de pasto estrella y con niveles crecientes de suplementación con harina de algodón (39 % PB) encontraron incrementos tanto en el consumo de heno como también en el de materia seca total. Por otra parte, Balbuena *et al.* (2012) en un estudio con terneras de 180 kg al destete consumiendo heno de pasto estrella y suplementación con grano de soja al 0,7 % PV, reportaron incrementos en el consumo total como así también en la ganancia de peso, aunque no hubo diferencias en el consumo de forraje.

Sin embargo, en la mayoría de los trabajos regionales antes mencionados, no se han evaluado la respuesta animal a la suplementación proteica en este tipo de forrajes con DDGS.

3.2. Suplementación con carbohidratos

El aporte de energía se realiza comúnmente mediante la suplementación con concentrados energéticos que pueden ser granos ricos en almidón, azúcares simples (*e.g.* melazas), o fuentes fibrosas como pulpas o cascarilla de soja (Hersom, 2008). La suplementación de forrajes con concentrados energéticos (*e.g.*, granos de cereales y co-productos), puede mejorar la eficiencia de uso del alimento, aumentar la concentración de propionato ruminal y reducir las pérdidas por metano (CH₄) (Johnson y Johnson, 1995; Moss *et al.*, 2000; Reis *et al.*, 2001). En forrajes de baja calidad pequeñas

cantidades de grano de maíz (7,8% del consumo MS) estimulan el consumo de forraje; y niveles superiores al 23% del consumo de MS lo deprimen (Henning *et al.*, 1980). En otros estudios (Chase y Hibberd, 1987; DelCurto *et al.*, 1990a; Sanson *et al.*, 1990) se ha observado que el uso de carbohidratos no fibrosos (*i.e.*, azúcares y almidón) comúnmente deprime la digestión y consumo en este tipo de forrajes.

Bowman y Sanson (1996) y Garcés-Yépez *et al.* (1997), por su parte, sugieren que la suplementación energética por encima del 0,5 al 0,8 % del peso vivo para fuentes de almidón y/o fibra disminuye el consumo de forraje. Esta respuesta está asociada con un efecto de sustitución (DelCurto *et al.*, 1990a) de forraje por concentrado, y al impacto negativo que ejerce mediante la disminución del pH ruminal y la digestibilidad de la fibra del forraje (Mould y Ørskov, 1983). No obstante, estudios más recientes (Heldt *et al.*, 1999; Klevesahl *et al.*, 2003; Arroquy *et al.*, 2004) sugieren que el efecto asociativo negativo de la suplementación con carbohidratos no fibrosos (CNF) sobre la utilización del forraje puede ser parcial o totalmente revertido mediante el suministro adecuado de PDR. Esta respuesta en el consumo se sustenta en una correspondencia en aumento de la tasa de pasaje por la corrección simultánea de proteína y energía (Klevesahl *et al.*, 2003).

La suplementación con carbohidratos de elevada degradación ruminal (*e.g.*, almidón, azúcares simples, etc.) puede resultar en un incremento en la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y una disminución del pH ruminal (Mould *et al.*, 1983; Kennedy y Bunting, 1992; Bargo *et al.*, 2002). En este sentido, cuando el pH ruminal cae por debajo de 6,0 (Calsamiglia *et al.*, 2008) la degradabilidad de la FDN disminuye significativamente. Mould y Ørskov (1983) y Mould *et al.* (1983) sugirieron que el pH es el principal factor determinante en la reducción de la digestibilidad ruminal de la fibra y la materia orgánica. No obstante, independientemente del pH, Mould y Ørskov (1983) sugieren que existe una depresión en la digestión de la fibra debida solo a la presencia de carbohidratos no fibrosos (CNF), denominado “Efecto carbohidrato” (Mould *et al.*, 1983). Con respecto a esto, Arroquy *et al.* (2005), en un estudio de digestión *in vitro* utilizando distintas fuentes de CNF – con y sin control de pH – observaron que la extensión de la digestión fue negativamente afectada por la inclusión

de CNF independientemente del pH, y que además la tasa de digestión de la fibra no solo se deprimió con CNF sino que el grado de depresión dependió del tipo de CNF.

La suplementación con co-productos donde la fuente de carbohidratos primaria es la fibra de alta degradabilidad (*e.g.*, cascarilla de soja, DDGS, gluten feed), ejerce un efecto menos negativo sobre la digestión de la fibra que con suplementos a base de almidón o azúcares (Cordes *et al.*, 1988; Garleb *et al.*, 1988). Con suplementos altos en fibra digestible, se ha observado un mayor número y actividad de las bacterias celulolíticas (Silva y Ørskov, 1988) y mayor estabilidad ruminal (Tamminga, 1993) comparado con suplementos a base de CNF. La suplementación con co-productos bajos en CNF además de tener un menor efecto negativo sobre la digestión de la fibra, la magnitud de depresión del consumo del forraje basal es generalmente menor comparada con los suplementos ricos en CNF (Bowman y Sanson, 1996). Por consiguiente los co-productos de la agroindustria como DDGS, cascarilla de soja, afrecho de trigo, pulpa de cítricos, gluten feed de maíz bajos en CNF (< 30% CNF en MS) y de alto contenido de TND (total de nutrientes digestibles; 75%) tendrían una ventaja si se los compara con suplementos tradicionales (Kunkle *et al.*, 2000) para la suplementación de forrajes de baja calidad.

3.3. Suplementos con lípidos

Los lípidos aumentan la densidad energética de la dieta, aunque altos niveles pueden afectar el consumo total y de forraje (MacDonald *et al.*, 2007), la digestibilidad de la fibra y otros componentes (Beauchemin *et al.*, 2008; Hess *et al.*, 2008) impactando en consecuencia negativamente sobre la productividad animal y la eficiencia de uso del suplemento. Sin embargo, bajos niveles de lípidos incrementan el consumo de energía. Además, altos niveles pueden afectar la población microbiana del rumen (Yang *et al.*, 2009) y alterar la relación acetato: propionato (Doreau y Chilliard, 1997). En este sentido, se ha indicado que un contenido de lípidos superior al 6 % disminuye significativamente el consumo en dietas a base de forrajes (Doreau y Chilliard, 1997, Arroquy *et al.*, 2014).

Los lípidos, según su naturaleza (*e.g.*, tipos de ácidos grasos), el contenido y su acción a nivel ruminal pueden reducir en mayor o menor magnitud la degradación de la fibra en el tracto digestivo total (Elmeddah, *et al.*, 1991; Ferlay y Doreau, 1992).

En este sentido, Maia *et al.* (2007) plantean las que los ácidos grasos insaturados son más tóxicos que los saturados, y esto se debe: a) la doble ligadura altera la forma de la molécula, por lo que los ácidos grasos ramificados desorganizan la bicapa lipídica (Keweloh y Heipeiper, 1996) microbiana; b) las múltiples doble ligaduras causan mayor toxicidad debido a que perturban las uniones éster de la membrana; y/o c) porque se tarda más tiempo en biohidrogenar la molécula completa.

Por lo tanto, provocan mayor inhibición de la fermentación ruminal, que los ácidos grasos saturados. Por otro lado, esta inhibición es causada principalmente por ácidos grasos de cadena larga (Mirzaei-Aghsaghali y Maheri-Sis, 2011).

Otra característica de los ácidos grasos, es que los ácidos grasos de cadena media y los de cadena larga disminuyen tanto a las poblaciones fúngicas, como así también a los de protozoarios ciliados, que ambos intervienen en la utilización de la celulosa. Afectando, en consecuencia, la digestión de la fibra (Ushida *et al.*, 1992). Estos autores no encontraron efecto sobre las poblaciones bacterianas, ni en ácidos grasos de cadena media ni en los de cadena larga. Jenkins *et al.* (2009) propone que existen dos factores que afectan la actividad antibacteriana de los lípidos, y son estructura y concentración. Los ácidos grasos libres por lo general inhiben la fermentación más que los triglicéridos y la actividad antibacteriana incrementa con el número de dobles enlaces (Chalupa *et al.*, 1984). Por otra parte, el crecimiento de algunos grupos bacterianos es estimulado por bajas concentraciones de ácidos grasos, pero se inhibe en presencia de altas concentraciones (Maczulak *et al.*, 1981). Además, un incremento en ácidos grasos insaturados en el rumen disminuye la relación acetato: propionato en rumen (Jenkins, 1997; Jenkins *et al.*, 2000; Jenkins y Adams, 2002). Esto a su vez, provoca una disminución en la digestión de materia orgánica, principalmente la fracción fibrosa (Doreau y Chilliard, 1997).

Las uniones éster de los acilglicerolés de la dieta sufren una rápida y extensa hidrólisis mediante la acción de enzimas lipolíticas microbianas en el rumen para formar

glicerol y ácidos grasos libres (Jenkins, 1993). Luego el glicerol es metabolizado por los microorganismos ruminales para producir AGV (Nagaraja *et al.*, 1997), y estos ácidos grasos que son liberados en la lipólisis ejercen un efecto antimicrobiano (Palmquist y Jenkins, 1980), lo cual resulta en cambios en las proporciones molares de los AGV (Doreau y Chilliard, 1997).

En síntesis, si bien la suplementación con fuentes ricas en lípidos como los DDGS pueden mejorar el estatus energético, podría afectar la utilización de la fibra del forraje.

3.4. Suplementación con DDGS en forrajes de baja calidad

La información disponible con respecto a la suplementación de forrajes de baja calidad con DDGS es escasa, y con resultados diversos (Smith *et al.*, 2001; Doering-Resch *et al.*, 2005).

Por un lado, Smith *et al.* (2001) propusieron que cuando se suplementa con DDGS en pasturas diferidas debería evaluarse el contenido de PDR, y sugieren el uso de DDGS en categorías con altos requerimientos de PNDR, como por ejemplo vacas de cría en los primeros meses de lactación. Por otro lado, Doering-Hersch *et al.* (2005) en vacas de cría concluyen que los DDGS pueden efectivamente sustituir a otros suplementos proteicos (con mayores niveles de PDR) sin perjudicar la performance animal, por lo cual sostienen que los DDGS son una alternativa económica de suplementación invernal para rumiantes consumiendo forrajes de baja calidad. Este trabajo a su vez se sustenta con el estudio realizado anteriormente por Stalker *et al.* (2004), en el que con un nivel de inclusión de 30 % de DDGS y niveles crecientes de urea para cubrir los requerimientos de PDR, no observaron diferencias en consumo de materia seca total, AMD y peso vivo final. Estos resultados los explican afirmando que el reciclaje de urea es suficiente para cubrir los requerimientos de PDR en rumen cuando se suplementa con DDGS, y no es necesario el uso de una fuente de aporte adicional de PDR.

Morris *et al.* (2005), con vaquillonas de 286 kg PV estudiaron el efecto de niveles crecientes de DDGS (0; 0,7; 1,4; 2; 2,7 kg MS/d) sobre dos fuentes de forraje de calidad diferente: heno de cebadilla (baja calidad, 53 % TND) vs heno de alfalfa + silaje

de sorgo (alta calidad, 65 % TND), por un lado encontraron que en forrajes de alta calidad se logran mayores AMD a mayor contenido de DDGS y por otro lado en ambos casos disminuye el consumo de forraje siendo más pronunciado en heno de cebadilla. Finalmente concluyen que los DDGS son una alternativa económicamente ventajosa tanto en forrajes de alta como de baja calidad. Winterholler *et al.* (2009) evaluaron la suplementación con distintos niveles de DDGS en rastrojo de trigo (5,9 % PB y 50 % DMS) en terneros destete. En este estudio observaron que el consumo de forraje disminuyó, mientras que el consumo de materia seca total y el AMD se incrementan en respuesta a la suplementación con DDGS. Los autores reportaron que se alcanzó el óptimo con un nivel de DDGS al 1,25 % PV, concluyen que en forraje de baja calidad la suplementación con DDGS es una alternativa efectiva en terneros destete. En las categorías novillo o vaquillona el óptimo económico-productivo se determinó en 1,4 % PV de suplementación con DDGS. Otros estudios (Van de Kerckhove *et al.*, 2011; Winterholler *et al.*, 2012) evaluaron el uso de los DDGS como suplemento para vacas de cría en pastoreo de forrajes de baja calidad, y concluyeron que los DDGS son una fuente adecuada de suplementación para estos sistemas. No obstante, otros (Warner *et al.*, 2011) no han reportado respuestas significativas a la suplementación con DDGS durante la gestación en vacas (rastrojo de maíz) y en vaquillonas (pastura de cebadilla diferida) en cuanto a la performance reproductiva (condición corporal, peso al nacimiento, etc.) ni a la programación fetal.

4. Emisiones de metano

4.1. Metanogénesis ruminal

El proceso de metanogénesis ruminal implica la captación de hidrógeno (H^+) y la reducción de dióxido de carbono (CO_2) por parte de bacterias metanogénicas ruminales (Stewart *et al.*, 1997). Varios estudios (Murray, *et al.*, 1976; Beauchemin *et al.*, 2008) sostienen que el 99 % del CH_4 se pierde por eructación y exhalación, y solo el 1 % se pierde a través del recto. El metano representa una pérdida significativa de energía dietaria en los sistemas productivos (Eckard *et al.*, 2010), cada molécula de metano contiene 55,22 MJ/ kg de energía (Brouwer, 1965).

La metanogénesis requiere de la presencia de tres coenzimas – solo presentes en los microorganismos metanogénicos- coenzima 420 (transferencia de electrones), coenzima M (transferencia de grupos metilos), y el factor B (formación enzimática de CH₄; Boadi *et al.*, 2004).

La formación de CH₄ se debe a reacciones de óxido-reducción (Bodas *et al.*, 2012), que ocurren a expensas de coenzimas (transportadores de electrones) NAD, FAD y ferredoxina (Russell y Wallace, 1997) que se reducen para dar NADH⁺ y FADH⁺ (Behlke, 2007). Durante este ciclo los electrones son tomados por el transportador intracelular de electrones NAD, el cual es reducido a NADH⁺ (Immig, 1996). Los electrones deben ser transferidos a un aceptor (Ej. CO₂, sulfatos, nitratos, o fumarato) para regenerar el NAD y completar el proceso de fermentación (Moss *et al.*, 2000). Los microorganismos fermentadores producen hidrógeno (H₂) y los metanogénicos lo utilizan para reducir CO₂ a CH₄ a través de la acción de la enzima tetrahidrometanopterinina (Rouviere y Wolfe, 1988; Graham y White, 2002). Los metanogénicos utilizan como única fuente de energía la reducción de CO₂ a metano usando H₂, ácido fórmico, metanol, metilaminas o acetato (Rouviere y Wolfe, 1988, Carmona *et al.*, 2005). La transferencia de H₂ interespecífica (microorganismos fermentadores a metanogénicos) resulta en un incremento en la utilización del carbono (Rogers y Whitman, 1991). El H₂ se transfiere desde las bacterias fermentadoras de azúcares a las metanogénicas, favorecido por la propiedad hidrofóbica de los metanogénicos que promueve su adhesión a partículas de alimentos y a la superficie de los protozoos (Boadi *et al.*, 2004). Este mecanismo previene de incrementos en la concentración ruminal de H₂ y reduce la acumulación de NADH⁺ favoreciendo la fermentación de la dieta por bacterias y hongos comparado con la ausencia de metanogénicas (5 – 28 %; McAllister *et al.*, 1996).

4.2. Producción de metano en función del consumo

El consumo de materia seca (CMS) es la variable más importante relacionada con la emisión de metano absoluta por animal y por unidad de energía o alimento (*e.g.*, energía consumida, energía digestible, etc.), y explica entre 52 % (Hammond, 2011) y 64 % (Boadi y Wittenberg, 2002; Monteny *et al.*, 2006) de la variación en la emisión diaria de metano. Varios estudios (Coppock *et al.*, 1964; Blaxter y Clapperton; 1965;

Beauchemin y McGinn, 2006) observaron que a medida que aumenta el consumo MS o energía bruta (EB) se incrementa la cantidad absoluta de CH₄, pero a una tasa decreciente. Algunos autores (Munger y Kreuzer 2006; Molano y Clark 2008; Eckard *et al.*, 2010) observaron que la producción de metano por kilogramo de CMS, varía entre 16 y 26 g. Esta reducción en la tasa de producción de metano en respuesta al aumento de consumo se ha asociado con cambios en la composición química del alimento, tasa de dilución, tasa de digestión, eficiencia de la población microbiana, y cambios en los productos finales de fermentación (Margan *et al.*, 1982; Reynolds *et al.*, 1991). La reducción en la tasa de producción de metano por unidad de aumento de consumo por encima de mantenimiento fluctúa de 0,77 % (Beauchemin y McGinn, 2006) a 1,6 % (Johnson y Johnson, 1995). Sin embargo, Hegarty (1997) mostró que el incremento en el CMS aumenta la producción de metano (kg CH₄/kg ganancia diaria de peso) para dietas de baja a mediana digestibilidad (55 - 65 %), y solo redujo la producción de CH₄ con dietas de alta digestibilidad (85 %). En este sentido desde los primeros estudios sobre metano de Blaxter y Clapperton (1965) y Kriss (1930), se ha establecido que existe una interacción entre el consumo y la digestibilidad sobre la producción de metano como porcentaje de la energía consumida. No obstante, una reducción en el factor de emisión en respuesta al incremento de la digestibilidad, se produjo cuando el nivel de consumo fue igual o superior a 3 veces el de mantenimiento. Mientras que cuando el consumo fue < 2x el aumento en la digestibilidad incrementó la emisión de metano.

Esta correlación entre el aumento de digestibilidad, consumo e incremento de la emisión de metano fue sustancialmente mayor cuando el nivel de consumo fue de 1x.

En síntesis, la pérdida de energía por metano (% EB) a niveles de consumo de mantenimiento aumenta a medida que la ED aumenta, pero esta relación no se mantiene a niveles de consumo de 2 veces el mantenimiento, y se revierte cuando el consumo es superior a 3 veces el consumo de mantenimiento (Blaxter y Clapperton, 1965). Ellis *et al.* (2007), concluyeron que el CMS, FDN, FDA, porcentaje de forraje y lignina en la dieta son los mejores predictores para producción de metano. Ramin y Huhtanen (2013), reportaron que el CMS es el principal predictor de la producción total de CH₄, y además que la digestibilidad de la dieta tiene una relación positiva, mientras que la

concentración de grasa en la dieta presenta una relación negativa, por otro lado, la composición de los carbohidratos tiene efectos menores sobre la producción de metano.

4.3. Producción de metano en forrajes de baja calidad

La producción de metano en forrajes de baja calidad fluctúa entre 12 % (Johnson y Johnson, 1995) y 15 - 18 % de la EB (Mirzaei-Aghsaghali y Maheri-Sis, 2011; Leng, 1991). Estas pérdidas dependen de varios factores relacionados con el animal (tipo, peso, y edad), la composición de la dieta, y el nivel de consumo (Blaxter y Clapperton, 1965; Cambra-López *et al.*, 2008).

Las pasturas tropicales generalmente usan la vía metabólica C_4 para foto respiración, mientras que las pasturas templadas usan fijación de carbono C_3 . Esta vía metabólica C_4 lleva a una mayor deposición de carbohidratos estructurales y de lignina en los tejidos de la planta. Aunque hay algunas excepciones, el elevado contenido de pared celular limita consumo voluntario y la digestión (Wilson, 1994).

Aunque no abundan estudios comparativos que hayan evaluado las diferencias en rendimiento de metano entre especies C_3 y C_4 , los primeros trabajos de Kriss (1930) y los más recientes (Margan *et al.*, 1988; McCrabb y Hunter, 1999) han observado mayor producción de metano en los forrajes tropicales que los forrajes templados. Kriss (1930) obtuvo una producción de metano 2,1 veces superior a las de gramíneas templadas (41,5 vs. 19,5 g CH_4 / kg MS consumida C_4 vs. C_3 respectivamente). Esta misma tendencia – aunque de menor magnitud – fue observada en una comparación de dos gramíneas subtropicales (*Setaria spacelata* y *Digitaria decumbens*) con raigras (Margan *et al.*, 1988). Estos autores observaron un 22,7 % más de producción de metano en las especies subtropicales que en templadas. Archimède *et al.* (2011) en un estudio donde compararon la producción de metano de gramíneas C_3 y C_4 – meta-análisis de trabajos científicos con forrajes de niveles equivalentes de fibra, digestibilidad y consumo – observaron que la producción de este gas fue 10 a 17 % mayor en C_4 que en C_3 . La mayor emisión de metano en C_4 se debe al mayor contenido de fibra y lignina que tienen estas especies en comparación con las C_3 a un mismo estado de desarrollo. Por otra parte, el alto contenido de pared celular y baja concentración de N del forraje diferido de especies C_4 limita el consumo voluntario

(Minson, 1990; McAllister *et al.*, 1996), factor que contribuye indirectamente a incrementar los factores de emisión en estas especies (Ramin y Huhtanen, 2013).

4.4. Suplementación proteica y producción de metano

Varias revisiones sobre suplementación proteica en forrajes de baja calidad (PB < 7%) reportan el incremento del consumo de forraje y la digestibilidad (Paterson *et al.*, 1996). Mejorando el consumo y utilización de estos forrajes puede proveer la energía necesaria para mantener la condición corporal (Palmer y Olson, 2000). Blaxter y Clapperton (1965) propusieron que cuando se mejora la calidad del forraje se tiende a incrementar consumo voluntario y disminuye el tiempo de retención en el rumen, lo cual promueve una digestión post-ruminal energéticamente más eficiente y se reduce la proporción de la energía dietaria que se convierte en CH₄.

Al mejorar la calidad de la dieta se puede mejorar la performance animal y reducir la producción de CH₄, con lo cual mejora la eficiencia al reducir la emisión de CH₄ por unidad de producto animal (Mirzaei-Aghsaghali y Maheri-Sis, 2011), definido por Leslie *et al.* (2008) como “Intensidad de emisión de metano” (CH₄/unidad de producto).

Estudios *in vivo* (Kirchgessner *et al.*, 1995) y modelos de predicción de producción de metano (Moe y Tyrrell, 1979; Mills *et al.*, 2003; Ellis *et al.*, 2008, Bannink *et al.*, 2010) consideran que la cantidad total o la proteína digestible consumida no tiene gran impacto sobre la emisión de metano comparado con el efecto que ejercen los carbohidratos. Sin embargo, la mayoría de los estudios se han desarrollado en situaciones donde el contenido de proteína se ubicaba muy por encima de los umbrales (*i.e.*, > 14%) o sin condiciones de desbalance de proteína degradable en rumen. El efecto de la suplementación proteica sobre la metanogénesis en forrajes de baja calidad no ha sido ampliamente estudiado (DeRamus *et al.*, 2003; Neto *et al.*, 2009), y la respuesta a la suplementación es variada (Boadi *et al.*, 2002; Hindrichsen *et al.*, 2006; Eugène *et al.*, 2011). Por ejemplo, DeRamus *et al.* (2003) realizaron un estudio de suplementación con varios suplementos proteicos sobre heno de *Paspalum notatum* (baja calidad) con vacas y vaquillonas. En ambas categorías de animales, los tratamientos sin suplementación perdieron peso (0,13 a 0,05 kg/d) mientras que los

animales suplementados ganaron entre 0,55 y 0,91 kg/d. La producción de metano diario fue 11 % menor en vacas y 13 % mayor en vaquillonas suplementadas y sin suplementar respectivamente.

Por otra parte, Neto *et al.* (2009) evaluaron el efecto de la suplementación proteica combinada con monensina sobre heno de *Urochloa brizantha* (cv. Marandú; 3,9 % PB, 80,4 % FDN; 6,3 % LDA) en vaquillonas cruce índica. En este estudio observaron que el suministro de proteína con monensina disminuyó la producción de metano, mientras que la suplementación proteica sin monensina incrementó la proporción de metano por kg MS. Sin embargo, tanto el CMS total (c.a. 0,9 a 1,3 % PV) como el incremento del CMS en respuesta a la suplementación proteica –pese a la significancia estadística– fueron muy bajos como para alterar la tasa de emisión de metano.

4.5. Suplementación con carbohidratos y producción de metano

La suplementación de forrajes con concentrados energéticos (*i.e.* granos de cereales y co-productos), puede mejorar la eficiencia de uso del alimento, aumentar la concentración ruminal de propionato y reducir la emisión de CH₄ (Lana *et al.*, 1998; Moss *et al.*, 2000; Reis *et al.*, 2001). Como fue descrito en secciones anteriores, si bien la suplementación con CNF estimulan el consumo de forraje; pero niveles elevados lo deprimen (Chase y Hibberd, 1987; DelCurto *et al.*, 1990a; Sanson *et al.*, 1990), aunque esto puede revertirse con un adecuado suministro de proteína degradable en rumen (Heldt *et al.*, 1999; Kleveshal *et al.*, 2003; Arroquy *et al.*, 2004).

Esta respuesta en el consumo es asociada a cambios en la tasa de pasaje. Kennedy y Milligan (1978) y Okine *et al.* (1989) sugieren que los cambios en la tasa de pasaje de sólidos impactan sobre la producción de CH₄ mediante la alteración de la extensión de la digestión ruminal, y dependiendo del tipo de forraje dichos cambios adquieren mayor o menor relevancia. En novillos, Okine *et al.* (1989) observaron un 29 % de disminución en la producción de CH₄ en respuesta a un incremento de 63 % en la tasa de pasaje sólido. Esto es coincidente con lo reportado por Kennedy y Milligan (1978) donde un aumento en la tasa de pasaje ruminal de líquidos (54 %) y sólidos (68 %) contribuyó a reducir la producción de CH₄ en un 30 %.

La elevada pérdida de energía por metano en estos forrajes no solo se debe al alto contenido de fibra, sino también a la deficiencia de nutrientes críticos (especialmente amonio) para un adecuado crecimiento de los microorganismos del rumen (Leng, 1991).

Por otra parte, distintos tipos de carbohidratos que constituyen los suplementos energéticos contribuyen diferencialmente al rendimiento de metano (Dijkstra *et al.*, 2007; Hindrichsen y Kreuser, 2009; Bannink *et al.*, 2010). Por ejemplo, los alimentos constituidos por azúcares solubles producen más metano por unidad de consumo que aquellos donde el carbohidrato predominante es el almidón (Mills *et al.*, 2001; Dijkstra *et al.*, 2007; Hindrichsen y Kreuser 2009; Bannink *et al.*, 2010). Hindrichsen *et al.* (2004) realizaron un estudio *in vitro* con distintas fuentes de carbohidratos (fibra lignificada, fibra no lignificada, pectina, hemicelulosa y pectina, fructosa, sacarosa, y almidón). En este trabajo los autores concluyeron que los azúcares tienen mayor producción de metano que el almidón y que las fibras bajo condiciones de elevado pH ruminal en dietas mezclas con alta proporción de forraje (FDN: 34,1 - 53,6 %).

4.6. Efecto del pH sobre la metanogénesis

La producción de metano, además es afectada por el pH ruminal. En este sentido Lana *et al.* (1998) sugirieron que la producción de metano se inhibe en respuesta al descenso de pH ruminal, lo cual puede mejorar la utilización del alimento por parte de los rumiantes y que en dietas a base de forrajes lo hacen a una tasa mayor que las dietas a base de concentrados.

El pH del rumen juega un papel importante, ya que determina qué población de microbios predomina, lo que también influye en la concentración de gas CH₄ (Erfle *et al.*, 1982).

Por otra parte, Lana *et al.* (1998) también proponen que la relación acetato: propionato *in vivo* está altamente influenciada por la capacidad de las bacterias para producir CH₄ *in vitro*. Es decir, animales con baja relación acetato: propionato también tiene valores bajos de pH, a su vez, experimentos *in vitro* corroboran que el pH y la relación acetato: propionato son factores de alto impacto en la metanogénesis.

Recientemente, Bannink *et al.* (2010) analizó cómo influye el pH sobre la formación de metano a partir de azúcares y almidón y encontró que a bajo pH (5,5) la producción de metano de los carbohidratos solubles se reduce significativamente, mientras que la producción de metano de los carbohidratos fibrosos alcanza su máxima expresión por unidad fermentada.

4.7. Efecto de los lípidos sobre la metanogénesis

En una revisión de Beauchemin *et al.* (2008), proponen que la efectividad de los lípidos dietarios para reducir la producción de CH₄ depende de varios factores como nivel de suplementación, fuente de lípidos, perfil de ácidos grasos, forma en que se administra (como aceite refinado o como semilla oleaginosa), y el tipo de dieta. En este sentido, el uso de suplementos ricos en lípidos como los DDGS presupone algún efecto potencial positivo sobre la metanogénesis o negativo sobre la utilización del forraje. A su vez, como se ilustró en la Tabla 3, en promedio el 80 % de los ácidos grasos de los DDGS son insaturados (Ranathunga *et al.*, 2010; Tang *et al.*, 2011; Kerr *et al.*, 2013), con lo cual podrían tener potencial para la reducción de la producción de CH₄ a través de la biohidrogenación de ácidos grasos, debido a que ambos procesos requieren H₂ (Czerkawski *et al.*, 1966) y a su efecto sobre bacterias metanogénicas. Existen dos grupos bacterianos involucrados en la biohidrogenación de los ácidos grasos: Grupo A – que incluye algunas bacterias que digieren la fibra las cuales isomerizan y reducen los ácidos grasos insaturados (Polan *et al.*, 1964; Kepler *et al.*, 1966; Kemp *et al.*, 1975); y el Grupo B – compuesto por bacterias que intervienen en la regulación de la biohidrogenación (Ye, 2013).

CAPITULO II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. HIPÓTESIS

- La suplementación de forraje de *Panicum maximum* (cv. Gatton panic) de baja calidad con granos de destilería aumentará la ganancia diaria de peso, mejorará la utilización del forraje, y reducirá la intensidad de emisión de metano, debido al incremento del consumo en respuesta al aumento en la tasa de pasaje y cambios en el perfil de fermentación ruminal en bovinos para carne, con respecto al control.
- Por otra parte, niveles elevados de suplementación con DDGS, debido al alto contenido de lípidos, ejercerán un efecto negativo sobre el consumo, la dinámica de pasaje y digestión de la fibra, y la partición de los productos de fermentación ruminal, disminuyendo de este modo la emisión de metano.

2. OBJETIVOS

Objetivo general:

Evaluar el efecto de la suplementación con DDGS sobre el desempeño productivo animal, la utilización de forrajes de gramíneas megatérmicas y la emisión de metano por parte de bovinos para carne.

Objetivos específicos:

- Evaluar el efecto de la suplementación con DDGS sobre el consumo, digestión, parámetros de fermentación ruminal y productividad animal.
- Cuantificar la producción de metano en dietas forraje de baja calidad de *Panicum maximum* (cv. Gatton) bajo distintos regímenes de suplementación con DDGS.

CAPÍTULO III

EXPERIMENTO I. SUPLEMENTACION DE FORRAJE DE BAJA CALIDAD DE *Panicum maximum* (cv. GATTON) CON GRANOS SECOS DE DESTILERÍA DE MAÍZ CON SOLUBLES: CONSUMO, DIGESTION, Y PARAMETROS FERMENTATIVOS RUMINALES

1. INTRODUCCION

En los últimos años en varios países del mundo (particularmente Estados Unidos) el uso de co-productos de la producción de etanol por la fermentación de granos de cereales (*e.g.*, maíz, sorgo, etc.) se ha expandido significativamente en la alimentación de rumiantes. En nuestro país la producción y el uso es aún incipiente, pero la instalación de nuevas fábricas está generando mayor disponibilidad de estos co-productos y una demanda de información sobre su potencial de utilización en los sistemas de alimentación nacionales. Los principales co-productos de la producción de etanol que se generan son: granos húmedos de destilería con solubles (WDGS, abreviatura de la denominación en inglés: *wet distillers grains plus solubles*) con 35 a 45 % de materia seca y los granos secos de destilería con solubles (DDGS, abreviatura de la denominación en inglés: *dry distillers grains plus solubles*) con 90 a 95 % de MS (Klopfenstein, 2001). La utilización está principalmente enfocada en los sistemas de engorde a corral, sin embargo, por sus características químicas representan un excelente recurso para la suplementación energético proteica de forrajes de mediana a baja calidad (Morris *et al.*, 2005; Grainger y Beauchemin, 2011). El impacto de la suplementación energética de forrajes de baja calidad con carbohidratos de alta digestibilidad ruminal (*e.g.*, azúcares, almidón, o fibras altamente digestibles) sobre la utilización del forraje puede ser negativo o positivo dependiendo el nivel, el tipo, y la disponibilidad de N en rumen (Bowman y Sanson, 1996; Garcés-Yépez *et al.*, 1997; Klevesahl *et al.*, 2003). El suministro de estas fuentes de carbohidratos pueden generar una disminución de la digestibilidad de la fibra del forraje y el consumo por el descenso del pH ruminal (Mould y Ørskov, 1983), la competencia por el uso del N ruminal (Tedeschi *et al.*, 2000) y la presencia de carbohidratos altamente digestibles *per se* – efecto carbohidrato (Mould *et al.*, 1983). Sin embargo, experimentos más recientes (Heldt *et al.*, 1999; Klevesahl *et al.*, 2003; Arroquy *et al.*, 2004) sugieren que el efecto asociativo negativo de la suplementación con carbohidratos no fibrosos sobre la utilización del forraje puede ser parcial o totalmente revertido mediante el suministro adecuado de proteína degradable en rumen (PDR; Klevesahl *et al.*, 2003). En este sentido, los DDGS por su elevado contenido de proteína bruta (~ 30%) representan un buen suplemento proteico, aunque la proteína es mayoritariamente no degradable en rumen (PNDR; Janicek *et al.*, 2008). No obstante lo cual, el reciclado de N al rumen proveniente por del elevado contenido de PNDR de los DDGS podría cubrir en parte las necesidades de PDR

(Stalker *et al.*, 2004). Wickersham *et al.* (2008) observaron que si bien el suministro de PNDR puede contribuir con las necesidades de PDR mediante el reciclado, la eficiencia de PNDR para estimular el consumo de MO digestible y la digestibilidad en forrajes de baja calidad es sustancialmente menor que el suministro directo de PDR.

Por otra parte, el elevado contenido de lípidos de los DDGS aumenta la densidad energética dietaria, pero a niveles elevados de consumo puede afectar negativamente el consumo (*i.e.*, forraje y/o total; Beauchemin *et al.*, 2008), y las poblaciones microbianas ruminales (Yang *et al.*, 2009), reduciendo en consecuencia, la digestibilidad de la fibra y otros componentes de la dieta (Beauchemin *et al.*, 2008; Hess *et al.*, 2008). Existen evidencias que los ácidos grasos insaturados libres, en particular, son potentes inhibidores de las bacterias celulolíticas (Henderson, 1973). En consecuencia, el consumo (*i.e.*, forraje y/o total; MacDonald *et al.*, 2007) y la digestibilidad (Devendra y Lewis, 1974) pueden reducirse, y la relación acetato: propionato (Doreau y Chilliard, 1997) alterarse. En suma, si bien la suplementación con DDGS tiene un aporte de proteína relevante, no está ampliamente evaluado el impacto que puede ejercer sobre la utilización de forrajes de baja calidad el elevado contenido de PNDR y las fuentes de energía (*i.e.*, fibras de alta degradabilidad y lípidos) que constituyen estos co-productos.

El objetivo de este experimento fue evaluar el efecto del nivel de suplementación de DDGS sobre el consumo, digestibilidad y productos de fermentación ruminal de novillos para carne alimentados a base de forraje de baja calidad de *Panicum maximum* (cv. Gatton).

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Animales, alojamiento y diseño experimental

Este estudio se realizó en las instalaciones de la Facultad de Agronomía y Agroindustrias de la Universidad Nacional de Santiago del Estero. Se estabularon 12 novillos cruza Braford (9 fistulados de rumen y 3 sin fistular) con un peso vivo promedio de 383 ± 100 kg. El diseño experimental utilizado fue completamente aleatorizado. Los animales fueron inicialmente pesados y alimentados *ad libitum* en corrales individuales de 2,5 x 3,0 m. Todos los animales fueron tratados de acuerdo a la Guía para cuidado y uso de animales de experimentación (INTA, 2013).

2.2. Tratamientos y composición de la dieta

Los tratamientos estuvieron formados por heno de *Panicum maximum* (cv. Gatton) diferido con tres niveles de suplementación con granos secos de destilería con solubles (DDGS): 0 (control) = sin suplementación, 6 = 6 g MS DDGS/kg PV y 12 = 12 g MS DDGS / kg PV. La composición química de los componentes de la dieta se detalla en la Tabla 1. A los fines del experimento el diferido fue henificado.

Los animales fueron alimentados diariamente a la h 6:00, y los suplementos se suministraron previos a la provisión de heno en los comederos. Durante todo el experimento los animales tuvieron libre acceso al agua y fueron aprovisionados con minerales traza para cubrir los requerimientos de acuerdo con NRC (1996). El período experimental fue subdividido en 4 intervalos; 1) 14 d de adaptación a los tratamientos; 2) 5 d para evaluar consumo *ad libitum* y digestión; 3) 1 d para monitorear los parámetros de fermentación ruminal; 4) 1 d para evacuación ruminal.

Tabla 1. Análisis de composición química de heno de *Panicum maximum* (cv. Gatton) y granos secos de destilería con solubles

	Heno		DDGS
MS	93,00		90,00
		% MS	
PB	7,00		25,80

FDN	74,50	59,00
FDA	45,00	19,10
EE	1,50	6,50
CIDA	3,08	0,61

MS: materia seca; PB: proteína bruta; FDN: fibra detergente neutro, FDA: fibra detergente ácido; EE: extracto etéreo; CIDA: cenizas indigestibles en detergente ácido.

2.3. Muestreo de heno, suplemento, rechazos, heces y contenido ruminal

Para estimar el consumo diario de alimento, cada mañana se recogía el remanente de alimento por comedero individual, se pesaba y registraba. La digestibilidad aparente *in vivo* se determinó mediante la estimación de la producción fecal utilizando como marcador interno el contenido de ceniza indigestible en detergente ácido (CIDA; Cochran y Galyean, 1994), para lo cual se tomaron muestras de heces frescas durante 3 d a intervalos de 6 h desfasados en el tiempo de modo tal que permita representar una distribución promedio del marcador interno cada 3 horas en un lapso equivalente a 24 horas. Finalmente se hizo un pool o mezcla de heces recolectadas en los distintos horarios por animal para las determinaciones de laboratorio. El d 21, se realizaron evacuaciones ruminales a la h 0 (antes de alimentar) y 4 (pos alimentación). Se tomaron 3 submuestras por momento de evacuación por animal. Estas submuestras se secaron en estufa para posteriormente realizar las determinaciones de laboratorio.

2.4. Perfil ruminal

Para la evaluación del perfil ruminal, el d 20 del experimento, se extrajeron muestras de líquido ruminal de 9 animales fistulados de rumen, a 0, 3, 6 y 12 h post alimentación. A su vez, se tomaron 3 submuestras por cada horario y animal con la finalidad de determinar pH, concentración de ácidos orgánicos totales (ácidos grasos volátiles (AGV) + ácido láctico) y amoníaco (N-NH₃) ruminal. La determinación de pH se realizó inmediatamente de colectada la muestra con un pH-metro portátil (Model PHS-3D-02 Assembly, Shanghai San-Xin Instrumentation, Inc). Para los análisis de ácidos orgánicos totales se diluyeron 8 mL de fluido ruminal en 2 mL de metafosfórico al 25% (w/v), mientras que las muestras colectadas para N-NH₃, se tomaron 2 mL de fluido y se diluyeron en 8 mL de HCl (16 N).

2.5. Análisis de laboratorio

Las muestras de heno, DDGS ofrecido, los rechazos de heno y DDGS, heces y contenido ruminal se secaron a 55°C en estufa de aire forzado hasta peso constante. Luego fueron molidas a un 1 mm en un molino Willey (modelo TS3375E15, Thomas Scientific, Swedesboro, New Jersey, USA) para realizar las determinaciones de laboratorio. Sobre las muestras secas y molidas se realizaron las siguientes determinaciones: materia seca de laboratorio a 105° C, cenizas mediante calcinación con horno mufla a 600° C durante dos horas para cálculo de contenido de materia orgánica. El análisis de proteína bruta (PB) se realizó mediante Kjeldahl (AOAC, 1984), la fibra detergente ácido (FDA) y fibra detergente neutro (FDN) mediante ANKOM 200 FIBER ANALYZER (Komarek, 1993). Para la determinación de las cenizas insolubles en solución detergente ácido – el marcador interno, se incineraron en mufla las bolsitas filtrantes luego de la determinación de FDA. Además, se determinó el contenido de extracto etéreo (AOAC, 1995).

Las muestras de fluido ruminal fueron centrifugadas (30000 x g) durante 10 minutos a 4° C y almacenadas en un freezer para ser analizadas. Para la determinación de AGV se utilizó un cromatógrafo gaseoso (Konik HRGC-3000 C, Barcelona, España) equipado con una columna capilar (Zebron ZB-FFAP). La concentración ruminal de N-NH₃ se determinó utilizando el procedimiento colorimétrico de Broderick y Kang (1980). Los niveles de ácido láctico en rumen fueron cuantificados utilizando el método colorimétrico propuesto por Barker y Summerson (1941).

2.6. Cálculos

El consumo se calculó por diferencia de los kilogramos de alimento ofrecidos y los kilogramos de alimento remanentes ajustados ambos por materia seca. Para el cálculo de la tasa de pasaje de sólido (%/h), se utilizó la concentración de CIDA en el alimento consumido y el contenido ruminal a 0 y 4 h post alimentación.

La digestibilidad *in vivo* aparente de nutrientes (MO, PB, FDN, FDA) se utilizó la siguiente ecuación (Cochran y Galyean, 1994):

Ec. 1.

$$\text{Digestibilidad (\%)} = 100 - 100 \times \left[\frac{\% \text{ marcador en alimento}}{\% \text{ marcador en heces}} \right] \times \left[\frac{\% \text{ nutriente en heces}}{\% \text{ nutriente en alimento}} \right]$$

2.7. Análisis estadísticos

El análisis de datos se realizó como un diseño completamente aleatorizado con el procedimiento de modelos generales y mixtos a través de la interfaz de R con el paquete estadístico INFOSTAT 2016 (UNC, Argentina). El modelo incluye los efectos fijos del nivel de DDGS en la dieta y el efecto aleatorio de las unidades experimentales. El modelo utilizado para el análisis de la varianza fue:

$$Y_{ij} = \mu + D_i + A_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde Y_{ij} es la variable dependiente, μ es la media global, D_i es el efecto fijo de la dieta i , A_j es el efecto aleatorio del animal j y ε_{ij} es el error experimental.

El análisis de varianza para las variables: pH, AGV y amonio ruminal se utilizó el siguiente modelo con medidas repetidas en el tiempo:

$$Y_{ijk} = \mu + D_i + A_j + t_k + (D_i \times t_k) + \varepsilon_{ijk}$$

Donde Y_{ijk} es la variable dependiente, μ es la media global, D_i es el efecto fijo de la dieta, A_j es el efecto aleatorio del animal, t_k es el efecto fijo del tiempo, $(D_i \times t_k)$ es el efecto fijo de la interacción entre el tratamiento j con el tiempo k , y ε_{ijk} es el error experimental.

La comparación de medias se realizó mediante la prueba de diferencias mínimas significativas de LSD de Fisher ($P < 0,05$) protegida por el test F de la ANAVA. Se usaron contrastes polinomiales para evaluar el patrón de respuesta a niveles de DDGS.

3. RESULTADOS

3.1. Consumo y digestibilidad aparente del tracto digestivo total

El consumo de materia orgánica (MO) total ($\text{g/kg PV}^{0,75}$) incrementó en forma lineal ($P < 0,01$) con la suplementación con DDGS. Por el contrario, el consumo de heno disminuyó con la suplementación con DDGS ($P < 0,01$). Respecto al consumo de nutrientes individuales: proteína bruta (PB) incrementaron de forma lineal ($P < 0,01$) expresado tanto en forma de % MS consumida como también en $\text{g/kg PV}^{0,75}$; Tabla 2). Por su parte, los consumo de FDN y FDA, como % MS consumida disminuyeron linealmente ($P < 0,01$), en ambos casos, mientras que en expresado en $\text{g/kg PV}^{0,75}$, FDN incrementó linealmente ($P < 0,01$), aunque no se observaron diferencias en el consumo de FDA ($P = 0,16$). El consumo de EE incremento (Lineal; $P < 0,01$) a medida que aumenta el nivel de suplementación con DDGS ($P < 0,01$), expresado como % de la materia seca total consumida y como $\text{g/kg PV}^{0,75}$.

La digestibilidad aparente del tracto digestivo total (Figura 1) de la MO incrementó con el aumento del nivel de suplementación (Lineal; $P < 0,03$). Por su parte, la digestibilidad de la PB (Lineal; $P < 0,01$) y de EE (Cuadrática; $P < 0,01$) también aumentaron en respuesta al nivel de DDGS. La digestibilidad de FDN mostró una tendencia lineal a incrementar con el nivel de DDGS en la dieta ($P = 0,07$) mientras que la de FDA no se diferenció estadísticamente entre tratamientos.

En cuanto al consumo de nutrientes digestibles (Figura 2, MO ($P < 0,01$) y PB ($P < 0,01$) aumentaron linealmente, como así también se observaron incrementos (Lineal: $P < 0,01$) en el consumo de FDN y FDA debido a la suplementación. Además, cabe destacar que en todas las variables antes mencionadas, los valores observados en 12 triplicaron a los observados en el tratamiento control.

Tabla 2. Efecto de la suplementación con granos secos de destilería (DDGS) sobre el consumo total, de heno y de nutrientes individuales de novillos alimentados con heno de *Panicum máximum* (cv. Gatton) diferido

Ítem	DDGS, g MS/kg PV ¹			EE ²	P-valor	Contrastes ³	
	0	6	12			Lineal	Cuadrático
Consumo, g/kg PV ^{0,75}							

Total	31,61	54,27	68,04	3,30	< 0,01	< 0,01	0,30
Heno	31,61	26,65	19,18	2,57	0,02	< 0,01	0,21

Consumo nutrientes individuales, % MS

Proteína bruta

% MS	7,00	15,25	20,16	0,11	< 0,01	< 0,01	< 0,01
g/kg PV ^{0,75}	2,55	8,88	14,48	0,42	< 0,01	< 0,01	0,50

Fibra detergente neutro

% MS	74,50	67,69	63,65	0,09	< 0,01	< 0,01	< 0,01
g/kg PV ^{0,75}	27,13	40,40	46,29	2,49	< 0,01	< 0,01	0,26

Fibra detergente ácido

% MS	45,00	33,63	26,87	0,15	< 0,01	< 0,01	< 0,01
g/kg PV ^{0,75}	16,39	19,68	20,25	1,39	0,16	0,13	0,22

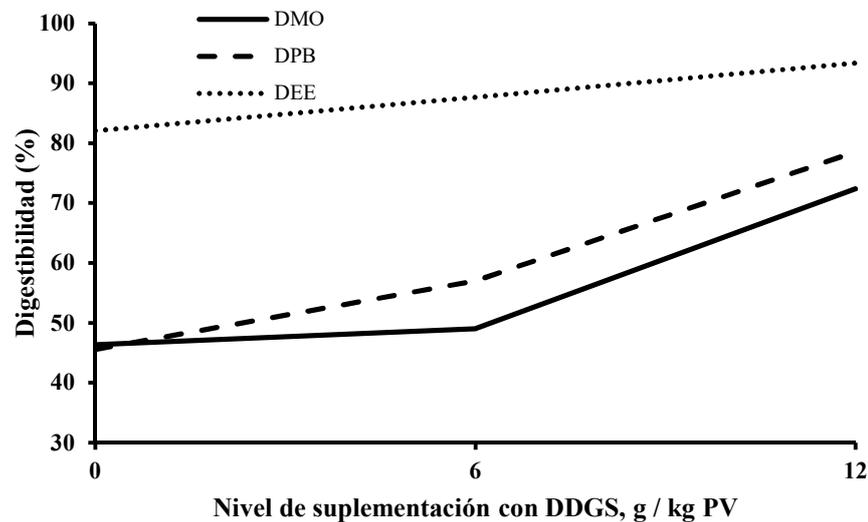
Extracto etéreo

% MS	0,38	3,56	4,75	0,38	< 0,01	< 0,01	0,06
g/kg PV ^{0,75}	0,15	1,98	3,74	0,09	< 0,01	< 0,01	0,78

1 Suplementación con DDGS: 0 = sin suplementación; 6= 6 g MS DDGS/kg de peso vivo; 12= 12 g MS DDGS/kg de peso vivo.

2 EE. Error estándar de la media

3 Probabilidad para el efecto lineal y/o cuadrático para la cantidad de DDGS.



Efectos de tratamiento

DMO

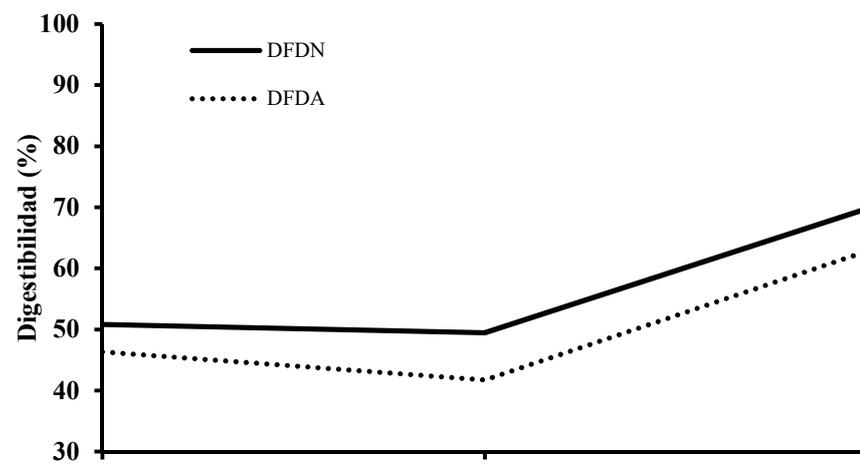
Lineal: $P = 0,03$
Cuadrático: $P = 0,24$
EEM = 6,47

DPB

Lineal: $P < 0,01$
Cuadrático: $P = 0,52$
EEM = 6,03

DEE

Lineal: $P = 0,01$
Cuadrático: $P < 0,01$
EEM = 2,24



Efectos de tratamiento

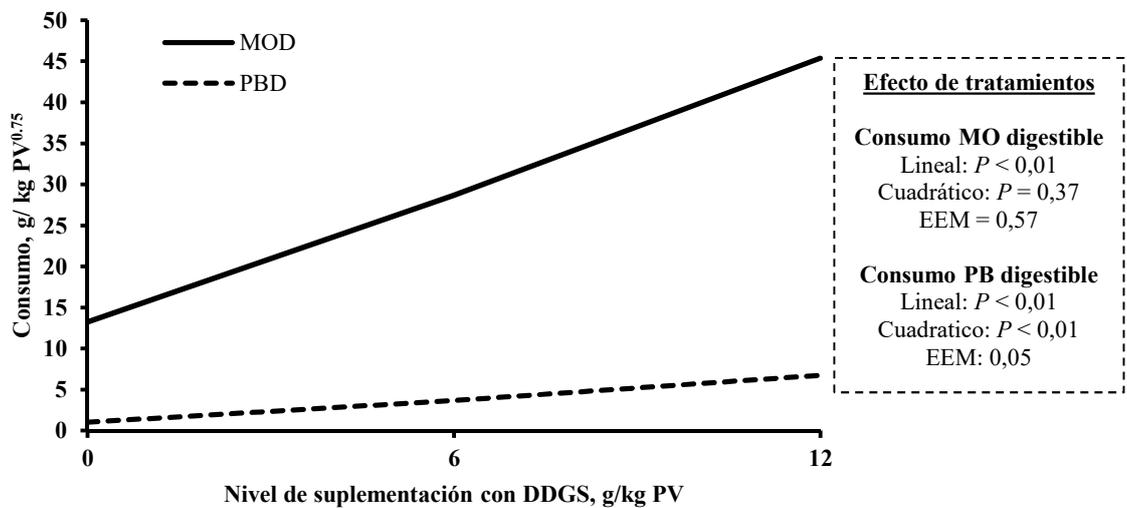
DFDN

Lineal: $P = 0,07$
Cuadrático: $P = 0,20$
EEM = 6,21

DFDA

Lineal: $P = 0,15$
Cuadrático: $P = 0,18$
EEM = 7,00

Figura 1. Efecto del nivel de suplementación de heno de *Panicum maximum* (cv. Gatton) con granos de destilería de maíz con solubles (DDGS) sobre la digestibilidad de MO (DMO), proteína bruta (DPB), extracto etéreo (DEE) fibra detergente neutro (DFDN) y fibra detergente ácido (DFDA).



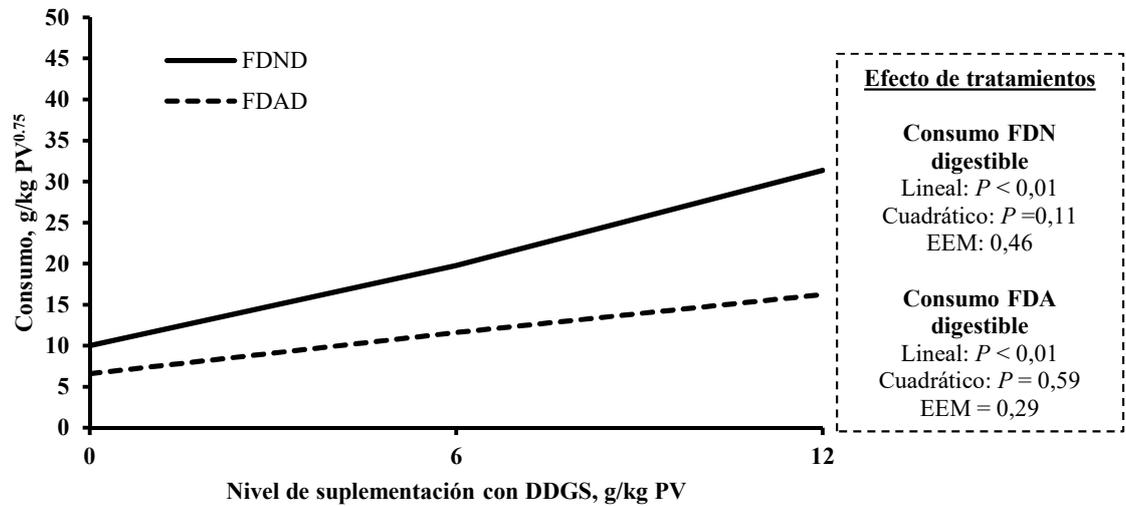


Figura 2. Efecto del nivel de suplementación de heno de *Panicum maximum* (cv. Gatton) con granos secos de destilería de maíz (DDGS) sobre el consumo de materia orgánica (MOD), proteína bruta (PBD), fibra detergente neutro (FDND) y fibra detergente ácido (FDAD) digestibles.

3.2. Perfil ruminal

Las variables ruminales monitoreadas (Tabla 3) no fueron estadísticamente afectadas por la interacción tratamiento \times hora de muestreo ($P > 0,13$), con excepción del pH ruminal ($P < 0,01$; Ver Anexo I).

El pH ruminal disminuyó de forma lineal a medida que se incrementó el nivel de suplementación con DDGS ($P < 0,01$; Ver ANEXO I). En contraste, la concentración mM de AGV totales, N-NH₃ y lactato ruminal no difirieron entre tratamientos ($P > 0,11$).

La proporción molar de AGVs en rumen fue afectada por la suplementación con DDGS ($P < 0,01$; Tabla 3. La suplementación con DDGS incrementó la proporción molar de propionato ($P < 0,01$; Lineal), butirato ($P < 0,05$; Cuadrática), isovalerato ($P <$

0,01; Cuadrática), y valerato ($P < 0,01$; Cuadrática). La proporción molar de acetato, por el contrario se redujo linealmente ($P < 0,01$) con el incremento de la suplementación con DDGS. De modo similar, la relación acetato: propionato disminuyó linealmente con la suplementación ($P < 0,01$).

Tabla 3. Efecto de la suplementación con granos secos de destilería (DDGS) sobre parámetros de fermentación ruminal de novillos alimentados con *Panicum maximum* (cv. Gatton) diferido

ítem	DDGS ¹ , g MS/kg PV				Efecto			Contrastes ³	
	0	6	12	EE ²	Trat	Hora	T×h	Lineal	Cuadr
pH	6,88	6,47	6,27	0,08	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,29
N-NH₃, mM	11,61	7,13	9,32	1,84	0,52	0,02	0,88	0,44	0,15
AGV totales, mM	115,22	129,28	114,60	5,37	0,11	0,09	0,72	0,93	0,04
Lactato, mM	0,71	2,86	2,16	0,92	0,14	0,72	0,70	0,11	0,44
Proporción molar, moles /100 moles AGV totales									
Acetato	77,98	73,90	67,29	1,10	<0,01	0,64	0,90	<0,01	0,36
Propionato	18,32	21,87	24,81	0,91	<0,01	0,83	0,79	<0,01	0,79
Butirato	3,02	3,69	6,14	0,36	<0,01	0,99	0,99	<0,01	0,05

Isovalerato	0,42	0,27	0,88	0,06	<0,01	<0,01	0,13	<0,01	<0,01
Valerato	0,27	0,28	0,88	0,05	<0,01	0,13	0,36	<0,01	<0,01
Acetato:Propionato	4,38	3,48	2,74	0,19	<0,01	0,65	0,65	<0,01	0,71

¹ Suplementación con DDGS: 0 = sin suplementación; 6= 6 g MS DDGS/kg de peso vivo; 12= 12 g MS DDGS/kg de peso vivo.

² EE. Error estándar de la media

³ Probabilidad para el efecto lineal y/o cuadrático para la cantidad de DDGS.

3.3. Llenado ruminal y tasa de pasaje sólida

El nivel de suplementación con DDGS no afectó el llenado ruminal (total, sólido, líquido) ni la tasa de pasaje sólido ($P > 0,43$; Tabla 4. No obstante las diferencias numéricas en tasa de pasaje fueron de importancia biológica (la tasa de pasaje sólido 12 g/kg PV de DDGS fue aproximadamente el doble que la de los otros niveles de suplementación) que se corresponden con el incremento observado en el consumo, pero en este experimento la variabilidad en la determinación para esta variable no permitió detectar diferencias de significancia estadística.

Tabla 4. Efecto de la suplementación con granos secos de destilería (DDGS) sobre el llenado ruminal y la tasa de pasaje sólida de novillos alimentados con heno de *Panicum maximum* (cv. Gatton) diferido

Ítem	DDGS, g MS/kg PV			EE ¹	P-valor	Contrastes ²	
	0	6	12			Lineal	Cuadrático
Llenado ruminal, g/ kg PV^{0,75}							
Total	622,00	624,00	576,00	46,00	0,72	0,50	0,67
Líquido	562,00	51,00	510,00	8,00	0,62	0,38	0,76
Sólido	59,40	72,30	65,80	9,30	0,64	0,65	0,43
Tasa de pasaje sólida, %/h	1,66	1,41	2,72	0,70	0,43	0,32	0,40

¹ n= 3 observaciones por tratamiento, EE. Error estándar de la media

² Probabilidad para el efecto lineal y/o cuadrático para la cantidad de DDGS.

4. DISCUSION

El propósito de este estudio fue evaluar el efecto de la suplementación de forraje de *Panicum maximum* (cv. Gatton) de baja calidad con DDGS sobre el consumo, la digestibilidad y productos de fermentación ruminal. Los resultados obtenidos muestran

que la suplementación generó sustitución de heno por DDGS, no obstante la digestibilidad y el consumo total de nutrientes digestibles (*i.e.*, MO, PB) aumentaron, mejorando así el estatus nutricional respecto al heno sin suplementación. Adicionalmente, la suplementación, incrementó la proporción molar en rumen de ácido propiónico y disminuyó la relación acetato: propionato, precursor de mayor eficiencia energética.

La reducción en el consumo de heno observada en este estudio es coincidente con resultados reportados en la bibliografía (MacDonald *et al.*, 2007; Loy *et al.*, 2007; Winterholler *et al.*, 2009) donde la suplementación con DDGS redujo el consumo de forraje. En este sentido, MacDonald *et al.* (2007) y Loy *et al.* (2007) observaron disminución en el consumo de heno cuando el nivel de suplementación con DDGS fue superior a 4 g MS /kg de peso vivo, aunque en este estudio no se observaron diferencias en el consumo de heno hasta que el nivel de DDGS fue superior a 6 g MS /kg PV. Con el nivel superior utilizado, el consumo de heno se redujo a casi la mitad (de 31,62 a 19,18 g MS/kg PV para los niveles 0 y 12, respectivamente). Esta disminución se puede sustentar con el trabajo de MacDonald *et al.* (2007) donde sugieren que cuando el suministro de DDGS es superior a 7,5 g MS DDGS/kg PV se produce una sustitución de forraje voluminoso por suplemento a una tasa cercana al 50 %. En contraste, el CMO y CMOD total aumentaron en respuesta a la suplementación con DDGS, coincidentemente con lo observado en estudios previos en forrajes de baja calidad suplementados con DDGS (Van de Kerckhove *et al.*, 2011; Winterholler *et al.*, 2012; Murillo *et al.*, 2016). Winterholler *et al.* (2009) utilizando heno de baja calidad (PB = 5,9 %) y un rango de niveles de suplementación con DDGS similar al utilizado en nuestro estudio (*i.e.*, 0,3; 0,75; 1,20; 1,65 % PV) observaron un incremento lineal del consumo de MS. Este fenómeno podría deberse a que la suplementación proteica mejora la digestión del forraje e incrementa la tasa de pasaje en forrajes de baja calidad (McCollum y Galyean, 1985; Beaty *et al.*, 1994; Mathis *et al.*, 1999). En este sentido, trabajos anteriores (McCollum y Galyean, 1985; DelCurto *et al.*, 1990b; Arroquy *et al.*, 2004) sugieren que el suministro de pequeñas cantidades relativas de PDR incrementa significativamente el consumo de materia orgánica digestible y la utilización del mismo. Sin embargo esto no se observó en todos los casos. Martínez-Pérez *et al.* (2013) evaluaron 4 niveles de suplementación con DDGS (0; 0,2; 0,4 y 0,6 % PV) con terneros

pastoreando pasturas en crecimiento (9,8 % PB), y el consumo no fue incrementado. Esto coincide con lo propuesto por Bohnert y del Curto (2010), que la mayoría de las respuestas a la suplementación proteica – ya sea por suministro directo de PDR o reciclado de N aportado a través de la PNDR – se observan cuando el contenido de proteína bruta del forraje es menor a 6 y 8 %. Por su parte, los consumos de PB y FDN también aumentaron con la suplementación con DDGS, coincidentemente con lo reportado en trabajos previos (Murillo *et al.*, 2016). El incremento en la digestibilidad, sumado a un mayor aporte de proteína a medida que aumenta el nivel de suplementación con DDGS, explican el incremento en el consumo de materia seca total. Por su parte el consumo de EE incremento con la suplementación (Lineal; $P < 0,01$) pero no alcanzó niveles que afecten negativamente el consumo de alimento ($EE > 6\%$ MS; Doreau y Chilliard, 1997; Arroquy *et al.*, 2014).

La digestibilidad de la MO, como se observó en trabajos anteriores (Martínez-Pérez *et al.*, 2013; Murillo *et al.*, 2016), se incrementó con la suplementación. Esto es producto de la sustitución de forraje por DDGS en respuesta al aumento en los niveles de suplementación (*i.e.*, superiores a 7,5 g DDGS/kg PV; MacDonald *et al.*, 2007). Sin embargo, esto no ocurre cuando se trata de forraje de mayor calidad ($PB > 7\%$) como se ha reportado en otros trabajos (Leupp *et al.*, 2009; Islas y Soto-Navarro, 2011; Van de Kerckhove *et al.*, 2011), donde no encontraron diferencias entre tratamientos con respecto al control.

Como fue reportado en trabajos anteriores con forrajes de baja calidad (Van de Kerckhove *et al.*, 2011; Murillo *et al.*, 2016) la digestibilidad de la PB aumentó linealmente a medida que incrementa la inclusión de DDGS en la dieta, a diferencia de otros trabajos con forrajes de mayor calidad (Islas y Soto-Navarro, 2011; Martínez-Pérez *et al.*, 2013) donde no se observaron diferencias.

La digestibilidad de FDN mostró una tendencia a incrementar con la suplementación con DDGS, contrariamente a lo sugerido por Martínez Marín *et al.* (2011), que la inclusión de fuentes de grasa no protegidas en la dieta para aportar más de 4% de grasa extra afecta negativamente a la digestibilidad de la fibra en la mayoría de las ocasiones. En este aspecto, la bibliografía no es consistente y depende del tipo de forraje que se suplementa. Por ejemplo, Leupp *et al.* (2009) y Van de Kerckhove *et al.*

(2011) obtuvieron resultados similares a los observados en este experimento, mientras otros (Islas y Soto-Navarro, 2011; Martínez-Pérez *et al.* 2013; Murillo *et al.*, 2016) reportaron incrementos en la digestibilidad de FDN con la suplementación con DDGS. Esto se sustenta en que los DDGS de maíz contienen altas proporciones de FDN de baja lignina, lo cual los convierte en una fuente de fibra de alta digestibilidad (Shurson y Noll, 2005). Por lo cual, cuando se produce la sustitución de forraje por DDGS en concordancia con el incremento del nivel de suplementación, se genera un reemplazo de FDN del heno baja digestibilidad por una FDN de alta digestibilidad, resultando en una mayor digestibilidad de la FDN de la dieta total. De forma similar a investigaciones previas en este trabajo (Leupp *et al.*, 2009; Van de Kerckhove *et al.*, 2011) no se encontraron diferencias en la digestibilidad de la fracción fibrosa de la pared celular naturalmente menos digestible, la FDA.

Por su parte, la digestibilidad del extracto etéreo se incrementó en forma exponencial con la suplementación con DDGS, de modo similar a lo observado en trabajos anteriores (Islas y Soto-Navarro, 2011; Winterholler *et al.*, 2012; Martínez-Pérez *et al.*, 2013).

No hubo efecto de la suplementación con DDGS sobre la tasa de pasaje de sólidos, esto mismo fue reportado por Van de Kerckhove *et al.* (2011), aunque en el presente estudio los valores fueron numéricamente superiores. En un trabajo reciente (Murillo *et al.*, 2016) con novillos Brangus a pastoreo (350 kg PV) encontraron un incremento en la tasa de pasaje en respuesta al aumento en el nivel de suplementación (*i.e.*, 0 a 0,5 % PV). En nuestro estudio la variabilidad en las determinaciones para el cálculo de la tasa de pasaje sólida fue muy alta, y esto es posiblemente lo que explique la carencia de respuesta estadísticamente significativa entre tratamientos.

El pH ruminal, en contraposición con lo observado en estudios similares – donde no observaron diferencias en el pH ruminal (Islas y Soto-Navarro, 2011; Martínez-Pérez *et al.*, 2013; Murillo *et al.*, 2016), se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas tanto para tratamientos como para el momento de muestreo y su interacción. Esta diferencia en respuesta a la suplementación puede explicarse por un menor nivel sustitución del consumo de forraje por DDGS comparado con nuestro estudio. No obstante, en nuestro trabajo, los rangos de pH en 0 y 6 se ubicaron dentro de

los valores ideales para un adecuado funcionamiento de las bacterias celulolíticas (Mould y Ørskov, 1983; Mould *et al.*, 1983; Hoover, 1986). En cambio para el nivel mayor de suplementación utilizado, el pH mínimo registrado se ubicó en valores que podría afectar negativamente (5,8) la digestión de la fibra (Grant 1994; Calsamiglia *et al.*, 2008). Aunque esto no fue reflejado en los resultados obtenidos, posiblemente debido al hecho de que pese a que el valor mínimo fue inferior al umbral de 6,2, este valor se registró solo a las 12 h posteriores al suministro del suplemento. En este sentido, Mouriño *et al.* (2001) – de una serie de estudios *in vitro* – sugirieron que una vez establecida la adhesión y sintetizada la cobertura con glicocálix entre la partícula de alimento y las bacterias fibrolíticas, aun si el pH se reduce por debajo de 6 la capacidad celulolítica se mantiene. Esto explicaría porque pese a que hubo una reducción en el pH en el nivel superior de suplementación la digestibilidad de la fibra no fue negativamente afectada.

Los niveles similares de N-NH₃ en rumen observados en este estudio son coincidentes con lo observado en trabajos previos (Leupp *et al.*, 2009; Islas y Soto-Navarro, 2011). El consumo de proteína con menor degradabilidad ruminal, disminuye el aporte potencial de amonio por metabolización de proteínas, explicando las estrechas diferencias entre tratamientos (Kleinschmit *et al.*, 2006). Por otra parte, a este aspecto puede sumársele la disponibilidad de energía y esqueletos carbonados rápidamente disponibles por el suministro de fibra de alta velocidad de fermentación, generando un sincronismo entre la disponibilidad de N y carbohidratos en el rumen que favoreció la captación de N por los microorganismos ruminales. Por otra parte, a medida que aumenta el consumo de lípidos disminuye la concentración de protozoarios ruminales (Doreau y Ferlay, 1995) mejorando la utilización potencial del amonio (Ikwuegbu y Sutton, 1982; Ushida *et al.*, 1991) debido a un incremento proporcional de la biomasa bacteriana (Czerkawski *et al.*, 1975).

La concentración ruminal de ácido láctico fue baja, y la suplementación con DDGS no influyó sobre este parámetro. Estos resultados son coincidentes con lo reportado por Schoonmaker *et al.* (2010). Los autores mencionados obtuvieron resultados similares en dietas con forraje de baja calidad con suplementación con

WDGS, y los niveles de este ácido se ubicaron dentro del rango establecido como normal (1-20 mM; Moller, 1968) para no afectar la funcionalidad ruminal.

La concentración de ácidos grasos volátiles totales no difirió entre tratamientos. Resultados similares fueron reportados por Islas y Soto-Navarro (2011) y Martínez-Pérez *et al.* (2013) en experimentos desarrollados bajo condiciones similares del forraje y de suplementación. Aunque los resultados obtenidos en estudios anteriores son contradictorios, en algunos casos la concentración total de AGV disminuye de manera lineal a medida que aumenta la suplementación con DDGS (Leupp *et al.*, 2009; Schoonmaker *et al.*, 2010; Arias *et al.*, 2012; Hünerberg *et al.*, 2013) y otros la concentración total incrementa con el nivel de DDGS (Loy *et al.*, 2007). La concentración de AGV es el resultado de la producción y la absorción de AGV. Por lo tanto, dependiendo del ambiente ruminal (*e.g.*, pH y concentración de AGV, etc.) este balance puede hacer que la concentración aumente o disminuya, y que no esté estrictamente ligado con producción de AGV *per se*.

De manera similar a trabajos anteriores con suplementación con DDGS en forrajes de baja calidad (Hünerberg *et al.*, 2013; Martínez-Pérez *et al.*, 2013; Murillo *et al.*, 2016) la proporción molar de acetato disminuyó en respuesta al nivel de DDGS. Por el contrario, la proporción molar de propionato ruminal aumentó por el incremento de DDGS. La proporción de butirato, valerato, e isovalerato subieron con el nivel destilados en la dieta. Resultados similares fueron obtenidos por Schoonmaker *et al.* (2010) con suplementación con granos húmedos de destilería sobre forraje como dieta base. Finalmente, la relación acetato: propionato disminuyó linealmente con el nivel de DDGS en la dieta, esta misma situación se observó en los resultados obtenidos en estudios con dietas similares (Leupp *et al.*, 2009; Martínez-Pérez *et al.*, 2013).

5. CONCLUSION

Niveles crecientes de suplementación con DDGS incrementaron el consumo de materia seca debido a una mayor digestibilidad de la dieta, por un mayor aporte de proteína y de fibra de alta digestibilidad por parte del suplemento. Sin embargo, el consumo de heno disminuye con la suplementación con DDGS. Los parámetros de

fermentación ruminal mejoraron con la suplementación debido a que hubo mayores niveles de propionato, valerato y menor relación acetato: propionato en rumen, lo cual se traduce en una mayor eficiencia energética. Por esto los DDGS se presentan como una alternativa adecuada de suplementación en forrajes de baja calidad.

CAPÍTULO IV

EXPERIMENTO II. SUPLEMENTACION DE FORRAJE DE BAJA CALIDAD DE *Panicum máximum* (cv. *Gatton*) CON GRANOS SECOS DE DESTILERÍA DE MAÍZ CON SOLUBLES: DESEMPEÑO PRODUCTIVO ANIMAL Y PRODUCCIÓN DE METANO ENTÉRICO

1. INTRODUCCIÓN

La alimentación ganadera del noroeste Argentino se basa en pasturas megatérmicas introducidas – principalmente *Panicum máximum* (cv. Gatton), que se caracterizan por tener una oferta de forraje concentrada en el verano (más del 60%), y baja calidad del forraje diferido al invierno (Cornacchione *et al.*, 2008). La baja digestibilidad y el bajo contenido proteico invernal son las principales limitantes del consumo de este forraje, y consecuentemente la principal restricción para la producción animal (Goes *et al.*, 2010; Valente *et al.*, 2011). En estas condiciones, tanto los animales en crecimiento como vacas de cría no logran cubrir sus requerimientos nutricionales básicos – proteicos y energéticos – como para mantener niveles productivos deseados si no son suplementados (Moore *et al.*, 1999; DelCurto *et al.*, 2000; Añez-Osuna *et al.*, 2015). La suplementación con proteína y energía es una herramienta clave para mejorar la productividad (*e.g.*, ganancia de peso, eficiencia de conversión, etc.) en animales que consumen forrajes de baja calidad (Caton y Dhuyvetter, 1997; Moore *et al.*, 1999; DelCurto *et al.*, 2000). La deficiencia proteica es la primera limitante del consumo y utilización de este tipo de forrajes (Köster *et al.*, 1996; Mathis *et al.*, 1999; Bandyk *et al.*, 2001). El suministro de suplementos ricos en proteína (Kunkel, 2011) corrige dicha deficiencia de nitrógeno ruminal e incrementa el consumo y la utilización del forraje. Esto aumenta la digestibilidad – disponibilidad de energía del forraje y la productividad animal (Mathis *et al.*, 2000; Bandyk *et al.*, 2001; Wickersham *et al.*, 2004). En segundo término, una vez corregido el suministro de proteína degradable en rumen (PDR), para lograr niveles de productividad superiores es necesario el aporte de una fuente de energía y/o dependiendo de la categoría, de proteína no degradable en rumen (PNDR; Stefan, 2013). Los DDGS de maíz por su composición de nutrientes se presentan como suplementos energético-proteicos (lípidos y fibra de alta digestibilidad, EM= 3,18 Mcal/kg MS, NRC 2000; 27 % PB, Stock *et al.*, 2000) para forrajes de mediana y baja calidad. La PB disponible es mayormente PNDR (55 % de la PB, Janicek *et al.*, 2008), si bien esto puede representar una ventaja o desventaja según el nivel de demanda de N ruminal. Algunos estudios (Stalker *et al.*, 2004) sugieren que cuando los DDGS son utilizados como suplementos de forrajes de baja calidad el reciclado de N en forma de urea es suficiente para cubrir los requerimientos de PDR en rumen. Por otro lado, debido a un mayor aporte de FDN y un menor o despreciable aporte de almidón, los DDGS deberían reducir los efectos negativos asociativos de la suplementación con

fuentes tradicionales de energía (*e.g.*, alto contenido de almidón o azúcares; Fieser y Vanzant, 2004). Por el contrario, el aporte de lípidos de los DDGS, podría – dependiendo del nivel de suplementación – reducir el consumo de forraje y el consumo total (Gustad *et al.*, 2006; Nuttleman *et al.*, 2008; Corrigan *et al.*, 2009), lo que impactaría negativamente sobre la performance animal.

La ganadería actual no solo requiere de una mejora en los parámetros productivos, sino que existe una fuerte demanda de la sociedad sobre esta actividad en aspectos ambientales como las emisiones de gases de efecto invernadero, y en este aspecto la dieta juega un rol preponderante. En cuanto a emisiones de metano entérico, se estima que los rumiantes generan entre el 17 a 37 % de las emisiones de metano de origen antrópico (Steinfeld y Wassenaar, 2007; Lassey, 2007). Se conoce que hay una gran variación en cuanto a pérdidas de metano con diferentes dietas en bovinos (Johnson y Johnson, 1995; Beauchemin y McGinn, 2006) sin embargo no está bien definido el efecto de los DDGS sobre las emisiones de metano (Hales *et al.*, 2012). Además, aun los trabajos de suplementación con DDGS son escasos y muestran resultados variables. Algunos estudios muestran reducciones (McGinn *et al.*, 2009), incrementos (Behlke *et al.*, 2008) o ningún efecto (Hales *et al.*, 2012) sobre las emisiones de metano con la suplementación con DDGS.

El objetivo de este experimento fue evaluar el efecto de la suplementación con DDGS sobre el consumo, productividad animal y la producción de metano de terneras alimentados con forraje de baja calidad de *Panicum máximum* (*cv. Gatton*).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Animales, alojamiento y diseño experimental

En las instalaciones EEA INTA Francisco Cantos, Santiago del Estero Argentina, se llevó a cabo un ensayo de alimentación con 30 terneras cruza Braford (Peso vivo promedio inicial = 154 ± 17 kg). Los animales fueron inicialmente pesados y

alimentados *ad libitum* en 2 corrales por tratamiento (n = 5). El período experimental fue de 70 días. Todos los animales fueron tratados de acuerdo a la Guía para cuidado y uso de animales de experimentación (INTA, 2013).

2.2. Tratamientos y composición de la dieta

Los tratamientos estuvieron formados por heno de *Panicum máximum* (cv. Gatton) con tres niveles de suplementación con DDGS: 0, 6, 12 g MS /kg PV de DDGS respectivamente. La composición química de los componentes de la dieta se detalla en la Tabla 1. La suplementación con DDGS se suministró diariamente en comederos de lona a las 6:00 h. Durante todo el experimento los animales tuvieron libre acceso al agua y al heno. Además, todos los tratamientos recibieron diariamente una mezcla de sal con minerales traza para cubrir los requerimientos de acuerdo con NRC (1996) junto con el suministro de DDGS.

Tabla 1. Composición química del heno de *Panicum máximum* (cv. Gatton) y granos secos de destilería con solubles (DDGS)

Item	Heno	DDGS
Matéria seca, %	84,40	90,00
	% MS	
Proteína bruta	6,10	25,80
Fibra detergente neutro	76,50	59,00
Fibra detergente ácido	50,10	19,10
Extracto etéreo	1,50	6,30

2.3. Consumo y ganancia de peso vivo

El consumo de heno por corral se estimó mediante la diferencia entre el peso del rollo al momento del suministro menos el peso remanente, dividido los días de duración de cada rollo. Estos valores fueron luego corregidos por MS, para el cálculo del consumo promedio diario por corral. Para estimar el consumo de suplemento cada mañana se limpiaba el comedero y se pesaba y registraba el alimento remanente. El consumo de suplemento por corral y/o promedio por animal se calculó mediante la

diferencia entre ofrecido y remanente, ambos componentes fueron previamente corregidos por MS.

2.4. Medición de la producción de metano

La cuantificación de metano, por cuestiones de logística y disponibilidad de equipamiento solo se realizó en el tratamiento control (0 DDGS) y en el nivel medio de suplementación (6 g DDGS/kg PV). Se utilizaron 20 animales para la colección de gases, 10 terneras por tratamiento provistas con el equipamiento para la toma de muestras de aire expirado por los animales. Para esta determinación se utilizó la “Técnica del gas marcador Hexafluoruro de Azufre (SF₆)” propuesta por Johnson *et al.* (1994). Se colectaron muestras de aire a pocos centímetros del ollar del animal durante un lapso de 5 días en tubos de acero inoxidable (0,5 l), utilizando un regulador de flujo de bolilla (Gere y Gratton, 2010) calibrado de modo tal que asegure el ingreso de las muestras de aire hacia el tubo durante los 5 días de colección. Cada regulador se conectó a una manguera de polietileno (d.i. = 12 mm), y se cubrió en el extremo del mismo con poliéster tejido con el objetivo evitar que se tape el regulador con agua y/o polvo. Previo a la colocación del instrumental de muestreo se realizó un pre-evacuado de los tubos a una presión menor a – 0,99 bar. El regulador de flujo se calibró en laboratorio de manera tal que permita una adecuada recolección de muestras, para alcanzar una presión final entre 0,4 – 0,6 bar al final del período de muestreo (Pinares-Patiño *et al.*, 2012). En la cercanía de los ensayos se colocó un cilindro colector para tomar muestras del ambiente que rodea a los animales, con el fin de ser descontado de las muestras extraídas de los animales. Las cápsulas fueron provistas por el Departamento de Físicoquímica Ambiental de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires. Las cápsulas seleccionadas tuvieron una carga promedio de $1,83 \pm 0,17$ g SF₆, y una tasa de liberación o “permeation rate” (PR) media de SF₆ de $4,29 \pm 0,85$ mg.d⁻¹, de acuerdo a la evaluación en el laboratorio a 39 °C realizada por el grupo que las proveyó. Desde el día 54 al 59 del período experimental. Diez días previos al período de colección de muestras, se introdujeron las cápsulas vía oral con un dosificador de PVC a cada animal, para que al momento de medición la tasa de emisión de SF₆ alcance el estado estable.

Para el cálculo de la producción de metano se utilizó la siguiente ecuación:

Ec. 1

$$QCH_4 = [(CCH_4 - CbCH_4) * QSF_6 / (CSF_6 - CbSF_6)] * [MWCH_4 / MWSF_6]$$

Donde,

QCH_4 = emisión diaria de metano

CCH_4 = concentración de metano en el colector

$CbCH_4$ = concentración de metano en el ambiente

QSF_6 = emisión diaria de Hexafluoruro de Azufre o permeation rate

CSF_6 = Concentración de Hexafluoruro de Azufre en el colector

$CbSF_6$ = Concentración de Hexafluoruro de Azufre en el ambiente

$MWCH_4$ = peso molecular de metano

$MWSF_6$ = peso molecular de SF_6 .

La proporción de los pesos moleculares (MW) son empleados para contabilizar por diferencia la densidad entre gases.

La tasa de la mezcla SF_6 y el CH_4 ($\mu\text{mol/mol}$) en el cilindro (CSF_6 y CCH_4 , respectivamente) y la tasa de liberación del SF_6 (QSF_6 : g/día) se emplean para determinar la emisión de CH_4 (QCH_4 : g/día) usando la Ec 1.

2.5. Análisis de laboratorio

Para las determinaciones de laboratorio, las muestras de heno y DDGS ofrecido, así como los rechazos fueron secados en estufa de aire forzado a 55 °C. Luego de secadas, se molieron a 1 mm en un molino Willey (modelo TS3375E15, Thomas Scientific, Swedesboro, New Jersey, USA). Se realizaron las siguientes determinaciones: materia seca de laboratorio a 105 °C, proteína bruta (PB) mediante Kjeldahl (AOAC, 1984). La fibra detergente ácido (FDA) y fibra detergente neutro (FDN) se determinaron mediante el analizador de fibra ANKOM 200 FIBER

ANALYZER (Komarek, 1993). Además se determinó el contenido de extracto etéreo (AOAC, 1995).

Las determinaciones de SF₆ y CH₄ en las muestras de gas colectadas se realizaron en el Departamento de Físicoquímica Ambiental de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires mediante el uso de un cromatógrafo gaseoso dotado con un detector de captura de electrones (ECD) para SF₆ y un detector de ionización de llama (FID) para CH₄.

2.6. Análisis estadístico

El análisis de datos se realizó como un diseño completamente aleatorizado con el procedimiento de modelos generales y mixtos a través de la interfaz de R con el paquete estadístico INFOSTAT 2016 (UNC, Argentina). El modelo incluye los efectos fijos del nivel de DDGS en la dieta y el efecto aleatorio de las unidades experimentales. El modelo utilizado para el análisis de la varianza fue:

$$Y_{ij} = \mu + D_i + A_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde Y_{ij} es la variable dependiente, μ es la media global, D_i es el efecto fijo de la dieta i , A_j es el efecto aleatorio del animal j y ε_{ij} es el error experimental.

La comparación de medias se realizó mediante la prueba de diferencias mínimas significativas de LSD de Fisher ($P < 0,05$) protegida por el test F de la ANAVA. Se usaron contrastes polinomiales para evaluar el patrón de respuesta a niveles de DDGS.

3. RESULTADOS

3.1. Cambio de peso vivo y consumo

El peso vivo final y el AMD incrementaron linealmente ($P = 0,03$ y $0,02$; respectivamente) en respuesta a la suplementación (Tabla 2). En ambos parámetros, el control fue estadísticamente menor a los suplementados, pero no hubo diferencias significativas entre los niveles de suplementación de 6 y 12 g DDGS/kg PV.

La suplementación con DDGS produjo un incremento exponencial ($P < 0,01$) del consumo de materia seca total (g/kg PV^{0,75}) a medida que incrementa el nivel de suplementación. Por otra parte, el consumo de heno disminuyó en forma lineal ($P < 0,01$) con el aumento de la suplementación con DDGS. El consumo de PB y EE se incrementaron de manera lineal ($P < 0,01$). El consumo de FDN (g/kg PV^{0,75}) aumentó cuadráticamente ($P < 0,01$), sin mostrar diferencias entre 0 (control) y 6. Por su parte el consumo de FDA incremento con la suplementación con DDGS (cuadrático; $P < 0,01$), sin mostrar diferencias entre 0 y 12.

Tabla 2. Efecto de la suplementación con granos secos de destilería (DDGS) sobre el consumo y performance de recría de terneras consumiendo heno de *Panicum máximum* (cv. *Gatton*)

Item	DDGS ¹ , g MS/kg PV			EE ²	P-valor	Contrastes ³	
	0	6	12			Lineal	Cuadrático
Peso inicial, kg	150,90	150,60	150,30	5,24	0,99	0,94	0,97
Peso final, kg	146,00	173,50	179,40	4,54	0,03	0,01	0,15
AMD, g/d	-65,33	308,00	390,67	39,44	0,02	0,01	0,13
Consumo, g MS/kg PV^{0,75}							
Total	73,90	71,26	94,15	2,20	<0,01	<0,01	<0,01
Forraje	73,90	61,34	53,53	1,80	<0,01	<0,01	<0,01
Consumo nutrientes individuales,							
Proteína bruta							
% MS	6,10	11,00	12,21	0,04	<0,01	<0,01	<0,01
g/kg PV ^{0,75}	4,51	7,84	12,21	0,23	<0,01	<0,01	0,08
Fibra detergente neutro							

% MS	76,50	72,15	70,40	0,04	< 0,01	< 0,01	< 0,01
g/kg PV ^{0,75}	56,54	51,41	66,28	1,61	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Fibra detergente ácido							
% MS	50,10	42,39	39,29	0,07	< 0,01	< 0,01	< 0,01
g/kg PV ^{0,75}	37,03	30,21	37,00	0,97	< 0,01	0,98	< 0,01
Extracto etéreo							
% MS	1,50	2,74	3,25	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
g/kg PV ^{0,75}	1,11	1,96	3,05	0,06	< 0,01	< 0,01	0,09

1 Suplementación con DDGS: 0 = sin suplementación; 6= 6 g MS DDGS/kg de peso vivo; 12= 12 g MS DDGS/kg de peso vivo.

2 EE. Error estándar de la media

3 Probabilidad para el efecto lineal y/o cuadrático para la cantidad de DDGS.

3.2. Producción de metano

La producción de metano se evaluó en solo dos de los tres tratamientos evaluados (Tabla 3). La emisión de metano por animal y por día fue similar entre tratamientos ($P = 0,13$). La producción de metano expresada por kilogramo de materia seca consumida no difirió entre los dos niveles de suplementación ensayados ($P = 0,12$). Con respecto a intensidad de metano (g CH₄/ g AMD), se observó una brusca disminución ($P < 0,01$) entre el control y 6, debido principalmente a la diferencia en ganancia de peso entre ambos tratamientos.

Tabla 3. Efecto de la suplementación con granos secos de destilería sobre la producción de metano de recría de terneras consumiendo heno de *Panicum máximum* (cv. Gatton)

Ítem	DDGS ¹ , g MS/kg PV		EE ²	P-valor
	0	6		
N*	5	5		
CH ₄ , g/d	45,73	65,51	8,23	0,13
CH ₄ , g/kg CMS	16,64	23,07	3,07	0,18
CH ₄ , g/g AMD**	45,73	0,29	7,56	<0,01

¹ Suplementación con DDGS: 0 (control) = sin suplementación; 6 = 6 g MS DDGS/kg de peso vivo.

² n= 5 observaciones por tratamiento

*5 observaciones de cada tratamiento fueron descartadas por desconexiones de la vía de recolección de gas

**Intensidad de metano (g CH₄/ g AMD)

4. DISCUSIÓN

Este estudio tuvo como objetivo principal determinar el impacto de la suplementación de forraje de baja calidad de *Panicum máximum* (cv. Gatton) con DDGS sobre productividad animal y producción de metano entérico. Los resultados obtenidos muestran una mejora sustantiva en la productividad animal y una reducción en la intensidad de metano (g CH₄/kg producto).

De manera similar a otros trabajos (Klopfenstein *et al.*, 2008; Bremer *et al.*, 2011; Griffin *et al.*, 2012) la suplementación con DDGS incrementó el consumo total y disminuyó el consumo de forraje. Este efecto negativo de la suplementación con DDGS sobre el consumo de heno y positivo sobre el consumo de materia seca total también fue reportado por Winterholler *et al.* (2009) con terneros destetados y niveles crecientes de DDGS en la dieta. Resultados similares fueron observados en otros estudios (Morris *et al.*, 2005; Gustad *et al.*, 2006). MacDonald *et al.* (2007), reportaron que la suplementación con DDGS con niveles mayores de 7,5 g MS/ kg PV produce una sustitución en el consumo de forraje del 50 %. Los consumos de PB y FDN se incrementaron de manera lineal, en correspondencia con lo reportado por Murillo *et al.* (2016). Por su parte, el consumo de EE aumentó linealmente a medida que crece el nivel de DDGS en la dieta, este fenómeno coincide con lo reportado anteriormente por otros autores (Leupp *et al.*, 2009; Islas y Soto-Navarro, 2011; Martínez-Pérez *et al.*, 2013).

En este sentido, el aporte simultáneo de lípidos y carbohidratos de alta digestibilidad parecen ser de mayor relevancia en la disminución del consumo como fue observado por estudios previos (Van de Kerckhove *et al.*, 2011).

En contraste con la disminución del consumo de forraje, el desempeño animal aumentó en respuesta a la suplementación. Estos resultados obtenidos son consistentes con lo observado en otros trabajos (Gadberry *et al.*, 2010; Bremer *et al.*, 2011; Griffin *et al.*, 2012); pero en los estudios anteriores mencionados los controles se ubicaron por encima de la ganancia observada en este experimento. Esto se atribuye a que en los trabajos citados los testigos tuvieron dietas de mejor calidad (PB > 7%). Los animales

de los tratamientos 6 y 12 tuvieron ganancias media diaria de 373 y 456 g/d superiores al testigo, el cual mostró una leve pérdida diaria de peso vivo. En un estudio similar, Balbuena *et al.* (2012) en un estudio con terneras al destete consumiendo heno de Pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*; 3,9 % PB) y suplementadas al 0,7 % PV con grano entero de soja (40 % PB) no encontraron diferencias en el consumo de forraje, sin embargo, reportaron incrementos en el consumo de materia seca total (1,48 vs 2,49 % PV), como así también en ganancia de peso de 180 vs 388 g/d, para animales sin suplementar y suplementados, respectivamente.

Por otra parte, la emisión de metano expresada por animal y por día y por kilo de alimento consumido, presentaron resultados similares con o sin suplementación. No abundan estudios sobre el impacto de la suplementación con DDGS sobre la producción de metano en este tipo de forrajes. En lo que respecta al aporte proteico, un estudio realizado por Neto *et al.* (2009) evaluaron el efecto de la suplementación proteica en forraje de *Urochloa brizantha* (cv Marandú) y obtuvieron valores similares de emisión a los medidos en este experimento, 19,1 y 24,3 g CH₄/kg MS con y sin suplementación respectivamente. El incremento en el consumo de MO digestible en respuesta a la corrección de deficiencias proteicas como fue observado en este trabajo y en el estudio de Neto *et al.* (2009) aumenta la disponibilidad de fuentes fermentables incrementando la producción de CH₄ (Pelchen y Peters, 1998). No obstante lo cual este incremento del consumo de MO digestible debería tender a reducir la emisión por unidad de MO consumida y la intensidad de emisión de CH₄ por unidad de producto (Allard, 2009) debido a la mejora en la productividad individual.

En base a lo observado en el experimento I, el incremento en la digestibilidad total se produjo debido a la sustitución de heno por DDGS induciendo a un aumento en la proporción molar de propionato y valerato respecto al acetato y butirato (disminución en la relación A:P y la relación acetado+butirato: propionato + valerato; productores vs. captadores de H). Tanto el ácido acético como el butírico son productores de H, 8 y 4 moles de H por unidad de glucosa fermentada respectivamente (Mills *et al.*, 2001). Por el contrario el propionato (captador de 4 H por glucosa fermentada) y el valerato también son captadores de hidrógeno (Guyader, 2015). Este aspecto pudo haber sido el responsable de que la producción de metano diario por animal no se incrementó

significativamente en las terneras suplementadas a pesar del mayor consumo de MS. Por otra parte, el aporte de extracto etéreo por la suplementación con DDGS, puede haber alterado la metanogénesis ejerciendo un efecto depresor de los microorganismos ruminales relacionados con la producción de metano (*e.g.*, protozoarios, Archaea sp.) o mediante la captación de H por la presencia de ácidos grasos insaturados, puesto que alrededor del 80% de los ácidos grasos que componen los lípidos de los DDGS son insaturados. En este sentido, Beauchemin y McGinn (2010) observaron que la incorporación de un 20% de DDGS en la dieta disminuyó entre 10 y 15% la producción de CH₄. En nuestro estudio dicho efecto no fue evidenciado, posiblemente debido a un menor porcentaje de lípidos del DDGS utilizado (6,3 %).

Además, el aporte de proteína degradable y no degradable en rumen también puede tener influencia sobre la producción de metano, mediante cambios en la digestión ruminal y aporte proteico, respectivamente. Por otra parte, si bien la PNDR no influye directamente sobre la digestión ruminal, el aporte de nitrógeno amoniacal por reciclado (Wickersham *et al.*, 2009; Titgemeyer, 2012) podría favorecer la captación de H estimulando el crecimiento microbiano ruminal.

Por otro lado, en los DDGS el aporte de energía está dado por los lípidos y fibra de alta digestibilidad, y no contienen carbohidratos solubles (Stock *et al.*, 2000). Esa fibra está compuesta por: hemicelulosa: 70 %, Celulosa: 26 %, y Lignina: 4 % (Anderson *et al.*, 2012). En este sentido, Moe y Tyrrell (1979) estimaron la producción de CH₄ (Mcal)/kg para distintas fuentes de carbohidratos (residuos solubles [carbohidratos no fibrosos]), hemicelulosa y celulosa obteniendo como resultado ~ 0,35, ~ 0,55, ~ 1,00 Mcal de metano por g de sustrato, respectivamente. En base a estos datos, se puede inferir que al haber mayor aporte de hemicelulosa a la dieta, la producción de CH₄ disminuiría, no obstante, esto no ocurrió en este trabajo, tal vez debido a que el nivel de DDGS en la dieta no fue suficiente como para evidenciar este efecto, o el contenido de lípidos del DDGS utilizada fue inferior al de otros trabajos. Aunque la suplementación con DDGS disminuyó la intensidad de metano principalmente debido a una mayor ganancia de peso vivo con respecto al control (sin suplementación).

5. CONCLUSIÓN

La suplementación con DDGS generó incrementos en el consumo de materia seca total, proteína bruta, fibra detergente neutro y extracto etéreo, y como consecuencia las ganancias de peso aumentaron. Sin embargo se afectó negativamente el consumo de forraje, debido a la sustitución de éste por el suplemento. En cuanto a la producción de metano no hubo diferencias entre los tratamientos evaluados. En cambio, la intensidad de metano que relaciona la producción de metano por kg de carne producido, fue menor con el nivel 6 de suplementación, mientras que con el nivel 0 la intensidad fue mayor, atribuible a leves pérdidas de peso vivo.

Capítulo V

CONCLUSIÓN GENERAL

Los resultados de esta serie de trabajos realizados muestran que la suplementación en forrajes de baja calidad con DDGS incrementa el consumo de MS y/o MO total, total de nutrientes digestibles (*i.e.*, MO, PB, FDN), aunque disminuye el consumo de heno. Por su parte, el pH ruminal si bien disminuyó con la suplementación no afectó digestibilidad de la fibra. Los parámetros de fermentación ruminal mejoraron con la suplementación debido a mayores niveles de propionato, valerato y menor relación acetato: propionato en rumen, lo cual se traduce en una mayor eficiencia energética y mayor ganancia de peso a medida que aumenta el nivel de DDGS en la dieta. Por otra parte, la suplementación con DDGS permitió disminuir la intensidad de metano, debido a una mayor producción por parte de los animales suplementados, pero no hubo diferencias en cuanto a emisiones diarias. Por esto, resultaría interesante evaluar la producción de CH₄ con mayor inclusión de DDGS en la dieta, lo cual podría disminuir tanto la intensidad de metano como así también la producción diaria.

CAPITULO VI

BIBLIOGRAFIA

- 21^a Cumbre de Naciones Unidas sobre Cambio Climático (COP 21). Diciembre 2015, Paris.
- Aines, G.T.; Klopfenstein, T.J.; and Stock, R. 1986. MP51 Distillers Grains. Historical Materials from University of Nebraska- Lincoln Extension. Paper 785.
- Aldai, N., Klieve, A.V., Dugan, M.E., Kramer, J.K., Ouwerkerk, D., Aalhus, J.L., McKinnon, J.J., y McAllister, T.A. 2012. Evaluation of rumen fatty acid hydrogenation intermediates and differences in bacterial communities after feeding wheat-or corn-based dried distillers grains to feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 90: 2699-2709.
- Allard, H. 2009. Methane emissions from Swedish sheep production. Degree Project in Animal Science, 30 hp, Advanced E. Swedish University of Agricultural Sciences, SLU, Uppsala, 2009.
- Anderson, P.V., Kerr, B.J., Weber, T.E., Ziemer, C.J. y Shurson, G.C. 2012. Determination and prediction of digestible and metabolizable energy from chemical analysis of corn coproducts fed to finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 90: 1242–1254.
- Añez-Osuna, F., Penner, G.B., Larson, K., Jefferson, P.G., Lardner, H.A., y McKinnon, J.J. 2015. Effect of rumen degradable energy supplementation on forage utilization and performance of steers grazing stockpiled cool season perennial grass pastures. *Canadian Journal of Animal Science*, 95: 255–265.
- AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis* (14th Ed.). Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Archimède, H., Eugène, M., Marie Magdeleine, C., Boval, M., Martin, C., Morgavi, D.P., Lecomte, P., y Doreau, M. 2011. Comparison of methane production between C3 and C4 grasses and legumes. *Animal Feed Science and Technology*, 166-167: 59-64.
- Arias, R.P., Unruh-Snyder, L.J., Scholljegerdes, E.J., Baird, A.N., Johnson, K.D., Bluckmaster, D., Lemenager, L.P., y Lake, S.L. 2012. Effects of feeding corn modified wet distillers grain plus solubles co-ensiled with direct-cut forage on feedlot performance, carcass characteristics, and diet digestibility of finishing steers. *Journal of Animal Science*, 90: 3574–3583.
- Arroquy, J.I., Cochran, R.C., Villarreal, M., Wickersham, T.A., Llewellyn, D.A., Titgemeyer, E.C., Nagaraja, T.G., Johnson, D.E., y Gnad, D. 2004. Effect of level of rumen degradable protein and type of supplemental non-fiber carbohydrate on intake and digestion of low-quality grass hay by beef cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 115: 83-99.
- Arroquy, J.I., Cochran, R.C., Nagaraja, T.G., Titgemeyer, E.C., y Johnson, D.E. 2005. Effect of types of non-fiber carbohydrate on in vitro forage fiber digestion of low-quality grass hay. *Animal Feed Science and Technology*, 120: 93-106.
- Arroquy, J.I., Berruhel, F., Martínez Ferrer, J., Pasinato, A. y Brunetti, M. 2014. Uso de subproductos del destilado de granos en bovinos para carne. *Jornada de Forrajes Conservados*. Programa Nacional de Producción Animal. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
- Balbuena, O., Stahringer, R.C., D'Agostini, A., Gándara, F.R. y Kucseva, C.D. 1998. Suplementación energético-proteica invernal de bovinos para carne en crecimiento. *Ganadería del NEA, Avances en Nutrición Animal*, 61-63.
- Balbuena, O., Kucseva, C.D., Rochinotti, D., Slanac, A.L., Somma de Feré, G.R., Schreiner, J.J., Navamuel, J.M., Koza, G.A. 2002. Niveles de suplementación proteica invernal para recría de bovinos para carne en pasturas tropicales. *Rev. Arg. Prod. Animal* 22(Supl. 1):16-18.
- Balbuena, O., Kucseva, C.D., Rochinotti, D., Flores, J., Slanac, A.L., Schreiner, J.J., Navamuel, J.M. y Koza, G.A. 2003a. Niveles de suplementación energético-proteica

- invernal para la recría de bovinos para carne en pasturas tropicales. 1. Afrechillo de trigo. *Arg. Prod. Animal* 23 (Supl. 1): 19-20.
- Balbuena, O., Kucseva, C.D., Rochinotti, D., Flores, J., Slanac, A.L., Schreiner, J.J., Navamuel, J.M. y Koza, G.A. 2003b. Niveles de suplementación energético-proteica invernal para la recría de bovinos para carne en pasturas tropicales. 2. Sorgo y expeller de algodón. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 23 (Supl. 1): 20-21.
- Balbuena, O., Rochinotti, D., Kucseva, C.D., Slanac, A.L., y Kudo, H. 2012. Soybean as supplement of growing cattle on tropical pasture. Effects on intake, digestibility and animal performance. *Revista veterinaria*, 23: 20-24.
- Bandyk, C.A., Cochran, R.C., Wickersham, T.A., Titgemeyer, E.C., Farmer, C.G. y Higgins, J.J. 2001. Effect of ruminal vs postruminal administration of degradable protein on utilization of low-quality forage by beef steers. *J. Anim. Sci.*, 79:225-231.
- Bannink, A., Smits, M.C.J., Kebreab, E., Mills, J.A.N., Ellis, J.L., Klop, A., France, J., y Dijkstra, J. 2010. Simulating the effects of grassland management and grass ensiling on methane emission from lactating cows. *The Journal of Agricultural Science*, 148: 55.
- Banta, J.P., Lalman, D.L., Owens, F.N., Krehbiel, C.R., y Wettemann, R.P. 2006. Effects of interval-feeding whole sunflower seeds during mid to late gestation on performance of beef cows and their progeny. *J. Anim. Sci.*, 84: 2410–2417.
- Bargo, F., Muller, L.D., Delahoy, J.E. y Cassidy, T.W. 2002. Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. *J. Dairy Sci.*, 85: 1777–1792.
- Barker, S.B. y Summerson, W.H. 1941. The colorimetric determination of lactic acid in biological material. *J. Biol. Chem.*, 138: 535.
- Barragán Ramírez, J.L., Martín del Campo Magallanes, C.M., Peña Acosta L.C., Robles Olivares J.P., Martínez, P.S., Jiménez P.C., Hernández Góbora, J., De Lucas Palacios, E., Reyes Velázquez, W.P. 2008. Utilización de granos secos de destilería con solubles (ddgs) en la alimentación animal. *Avances en la investigación científica en el CUCBA. XIX Semana Nacional de la Investigación Científica.*
- Beaty, J.L., Cochran, R.C., Lintzenich, B.A., Vanzant, E.S., Morrill, J.L., Brandt Jr., R.T. y Johnson, D.E. 1994. Effect of frequency of supplementation and protein

- concentration in supplements on performance and digestion characteristics of beef cattle consuming low-quality forages. *J. Anim. Sci.*, 72: 2475–2486.
- Beauchemin, K.A. y McGinn, S.M. 2006. Enteric methane emissions from growing beef cattle as affected by diet and level of intake. *Canadian Journal of Animal Science*, 86: 401–408.
- Beauchemin, K.A., McGinn, S.M. y Petit, H.V. 2007. Methane abatement strategies for cattle: Lipid supplementation of diets. *Can. J. Anim. Sci.*, 87: 431-440.
- Beauchemin, K. A., McGinn, S. M., y Grainger, C. 2008. Reducing Methane Emissions from Dairy Cows. *WCDS Advances in Dairy Technology*, 20: 79–93.
- Beauchemin, K.A., y McGinn, S.M. 2010. Reducing Methane in Dairy and Beef Cattle Operations: What is Feasible?. *Agriculture and its Impact on the Environment*: 16-20.
- Behlke, E.J. 2007. Attenuation of Ruminant Methanogenesis. *Theses and Dissertations in Animal Science*. Paper 3.
- Behlke, E.J., Sanderson, T.G., Klopfenstein, T.J., y Miner, J.L. 2008. Ruminant Methane Production Following the Replacement of Dietary Corn with Dried Distillers Grains. *Nebraska Beef Cattle Reports*. Paper 50.
- Beliveau, R.M. 2008. Effect of graded levels of wheat-based distiller's grains in a barley ration on the growth performance, carcass quality and rumen characteristics of feedlot steers. *Master of Science thesis*. University of Saskatchewan, Canada.
- Blaxter, K.L., y Clapperton, J.L. 1965. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *The British journal of nutrition*, 19: 511–22.
- Boadi, D.A., y Wittenberg, K.M. 2002. Methane production from dairy and beef heifers fed forages differing in nutrient density using the sulphur hexafluoride (SF₆) tracer gas technique. *Canadian Journal of Animal Science*, 82: 201–206.
- Boadi, D.A., Wittenberg, K.M., y Kennedy, A.D. 2002. Validation of the sulphur hexafluoride (SF₆) tracer gas technique for measurement of methane and carbon dioxide production by cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 82: 125–131.
- Boadi, D., Benchaar, C., Chiquette, J., y Massé, D. 2004. Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: Update review. *Canadian Journal of Animal Science*, 84: 319–335.

- Bodas, R., Prieto, N., García-González, R., Andrés, S., Giráldez, F.J., y López, S. 2012. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology*, 176: 78–93.
- Boila, R.J. e Ingalls, J.R. 1994. The ruminal degradation of dry matter, nitrogen and amino acids in wheat-based distillers' dried grains in sacco. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 48: 57–72.
- Bolsa de Comercio de Rosario 2014. Informativo Semanal. AÑO XXXII - N° 1677 - 26 DE SEPTIEMBRE DE 2014.
- Bohnert, D., y DelCurto, T. 2003. Fundamentals of supplementing low-quality forage. CL317 in cow-calf management guide and producer's library. Agricultural Communications, College of Agricultural and Life Sciences, Oregon State University.
- Bothast, R.J. y Schlicher, M.A. 2005. Biotechnological process for conversion of corn into ethanol. *Apl. Microbiol. Biotechnol.*, 67: 19-25.
- Bowman, J.G.P., y Sanson, D.W. 1996. Starch- or fiber-based energy supplements for grazing ruminants. Pages 118–135 in *Proc. Grazing Livest. Nutr. Conf.*, Rapid City, SD.
- Brake, D.W., Titgemeyer, E.C., Jones, M.L. y Anderson, D.E. 2010. Effect of nitrogen supplementation on urea kinetics and microbial use of recycled urea in steers consuming corn-based diets. *Journal of Animal Science*, 88: 2729–2740.
- Bremer, V.R., Watson, A.K., Liska, A.J., Erickson, G.E., Cassman, K.G., Hanford, K.J., y Klopfenstein, T.J. 2011. Effect of distillers grains moisture inclusion level in livestock diets on greenhouse gas emissions in the corn-ethanol- livestock life cycle. *The Professional Animal Scientist*, 27: 449–455.
- Broderick, G.A., y Kang, J.H. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *Journal of Dairy Science*, 63: 64–75.
- Brouwer, E. 1965. Report of subcommittee on constants and factors. *Proc. 3rd EAAP Symp. On Energy metabolism* pp. 441-443. Troon, Publ. 11, Academic Press, London.
- Buckner, C.D., Wilken, M.F., Benton, J.R., Vanness, S.J., Bremer, V.R., Klopfenstein, T.J., Kononoff, P.J. y Erickson, G.E. 2011. Nutrient variability for distillers grains

- plus solubles and dry matter determination of ethanol by-products. *Professional Animal Scientist*, 27: 57–64.
- Calsamiglia, S., Cardozo, P.W., Ferret, A. y Bach, A. 2008. Changes in rumen microbial fermentation are due to a combined effect of type of diet and pH. *Journal of Animal Science*, 86: 702-711.
- Cambrá-López, M., García Rebollar, P., Estelles, F., y Torres, A. 2008. Estimación de las emisiones de los rumiantes en España: el factor de conversión de metano. *Arch. Zootec*, 57: 89-101.
- Carmona C.J., Bolívar M.D., y Giraldo A.L. 2005. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 18: 49-63.
- Cao, Z.J., Anderson, J.L. y Kalscheur, K.F. 2009. Ruminant degradation and intestinal digestibility of dried or wet distillers grains with increasing concentrations of condensed distillers solubles. *Journal of Animal Science*, 87: 3013.
- Caton, J.S. y Dhuyvetter, D.V. 1997. Influence of energy supplementation on grazing ruminants: Requirements and responses. *Journal of Animal Science*, 75: 533-542.
- Chalupa, W., Rickabaugh, B. Kronfeld, D.S. y Sklan, D. 1984. Rumen fermentation in vitro as influenced by long chain fatty J. *Dairy Sci.* 67:1439-1444.
- Chaparro, C.J., Pueyo, J.D., Cardozo, J.P. 1998. Recría de terneros sobre pasturas con suplementación invernal. Folleto Ganadería del NEA (INTA)-Avances en Nutrición Animal, Septiembre 1998, p. 117-121.
- Chase, C.C., y Hibberd, C.A. 1987. Utilization of low-quality native grass hay by beef cows fed increasing quantities of corn grain. *Journal of Animal Science*, 65: 557–566.
- Clanton, D.C. 1982. Crude protein in range supplements. In: F. N. Owens (Ed.) *Protein Requirements for Cattle*. Oklahoma State Univ. MP-109:228.
- Cochran, R.C., y Galyean, M.L. 1994. Measurement of in vivo forage digestion by ruminants. Pages 613-643 in Fahey Jr, G.C., Collins, M.C., Mertens, D.R. & Moser, L.E. eds. *Forage quality, evaluation, and utilization*. ASA-CSSA- SSSA.
- Coppock, C.E., Flatt, W.P., Moore, L.A., y Stewart, W.E. 1964. Relationships between end products of rumen fermentation and utilization of metabolizable energy for milk production. *Journal of Dairy Science*, 47: 1359–1364.

- Cordes, C.S.; Turner, K.E.; Paterson, J.A.; Bowman, J.G.P.; y Forwood, J.R. 1988. Corn gluten feed supplementation of grass hay diets for beef cows and yearling heifers. *Journal of Animal Science*, 66: 522.
- Cornacchione, M.V., Fumagalli, A.E., González Pérez, M.A., Salgado, J.M., Oneto, C., Sokolic, L., Mijoevich, L.M. 2008. Calidad estivo-otoñal de cuatro gramíneas forrajeras tropicales. *Revista Argentina de Producción Animal*, 28: 349-543.
- Corrigan, M.E., Erickson, G.E., Klopfenstein, T.J., Luebbe, M.K., Vander Pol, K.J., Meyer, N.F., Buckner, C.D., Vanness, S.J., y Hanford, K.J. 2009. Effect of corn processing method and corn wet distillers grains plus solubles inclusion level in finishing steers. *Journal of Animal Science*, 87: 3351–3362.
- Czerkawski, J.W., Blaxter, K.L., y Wainman, F.W. 1966. The effect of linseed oil and linseed oil fatty acids incorporated in the diet on the metabolism of sheep. *Br. J. Nutr.* 20:485–494.
- Czerkawski, J.W., Christie, W.W., Breckenridge, G. y Hunter, M.L., 1975. Changes in the rumen metabolism of sheep given increasing amounts of linseed oil in their diet. *Br. J. Nutr.*, 34: 25-44.
- DeHaan, K., Klopfenstein, T.C., y Stock, R. 1983. Corn gluten feed protein and energy source for ruminants. *Nebraska Beef Cattle Report MP 44*: 19–21.
- Del Curto, T., Cochran, R.C., Harmon, D.L., Beharka, A.A., Jacques, K.A., Towne, G. y Vanzant, E.S. 1990a. Supplementation of dormant, tallgrass-prairie forage: I. Influence of varying supplemental protein and (or) energy levels on forage utilization characteristics of beef steers in confinement. *Journal of Animal Science*, 68: 515-531.
- DelCurto, T., Cochran, R.C., Corah, L.R., Beharka, A.A., Vanzant, E.S., y Johnson, D.E. 1990b. Supplementation of dormant tall grass-prairie forage: II. Performance and forage utilization characteristics in grazing beef cattle receiving supplements of different protein concentrations. *Journal of Animal Science*, 68: 532-542.
- DelCurto, T., Hess, B.W., Huston, J.E., y Olson, K.C. 2000. Optimum supplementation strategies for beef cattle consuming low-quality roughages in the Western United States. *Journal of Animal Science*, 77: 1–16.

- DeRamus, H.A., Clement, T.C., Giampola, D.D., y Dickison, P.C. 2003. Methane emissions of beef cattle on forages: efficiency of grazing management systems. *Journal of Environmental Quality*, 32: 269–77.
- Detmann, E., Valente, E.E.L., Batista, E.D., y Huhtanen, P. 2014. An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. *Livestock Science*, 162: 141–153.
- Devendra, C., y Lewis, D. 1974. The interaction between dietary lipids and fibre in sheep. Two digestibility studies. *Anim. Prod.* 19: 67–76.
- Dhuyvetter, D.V., Petersen, M.K., Ansotegui, R.P., Bellows, R.A., Nisley, B., Brownson, R. y Tess, M.W. 1993. Reproductive efficiency of range beef cows fed different quantities of ruminally undegradable protein before breeding. *Journal of Animal Science*, 71: 2586–2593.
- Dijkstra, J., Kebreab, E., Mills, J.A.N., Pellikaan, W.F., López, S., Bannink, A., y France, J. 2007. Predicting the profile of nutrients available for absorption: from nutrient requirement to animal response and environmental impact. *Animal*, 1: 99–111.
- Dixon, R.M., y Coates, D.B. 2010. Diet quality estimated with faecal near infrared reflectance spectroscopy and responses to N supplementation by cattle grazing buffel grass pastures. *Animal Feed Science and Technology*, 158: 115–125.
- Doering-Resch, H., Wright, C. Tjardes, K., Perry, G., Bruns, K. y Rops, B. 2005. Effectiveness of dried distiller's grain with solubles as a replacement for oilseed meal in supplements for cattle consuming poor quality forage. *South Dakota Agric. Exp. Stn. Res. Rep.* 14: 68–72.
- Doreau, M. y Ferlay, A. Effect of dietary lipids on nitrogen metabolism in the rumen: a review. *Livest. Prod. Sci.*, 1995. 43: 97-110.
- Doreau, M. y Chilliard, Y. 1997. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *Br. J. Nutr.* 78: 15–35.
- Eckard, R.J., Grainger, C., y De Klein, C.A.M. 2010. Options for the abatement of methane and nitrous oxide from ruminant production: A review. *Livestock Science*, 130: 47–56.
- Egan, A.R. y Doyle, P.T. 1985. Effects of intraruminal infusion of urea on the response in voluntary food intake by sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 36: 483.

- Ellis, J.L., Kebreab, E., Odongo, N.E., McBride, B.W., Okine, E.K., y France, J. 2007. Prediction of methane production from dairy and beef cattle. *Journal of dairy science*, 90: 3456–66.
- Ellis, J.L., Dijkstra, J., Kebreab, E., Bannink, A., Odongo, N.E., McBride, B.W., y France, J. 2008. Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modelling of methane production in cattle. *The Journal of Agricultural Science*, 146: 213–233.
- Elmeddah, Y., Doreau, M., y Michalet-Doreau, B. 1991. Interaction of lipid supply and carbohydrates in the diet of sheep with digestibility and ruminal digestion. *The Journal of Agricultural Science*, 116: 437-445.
- Erfle, J.D., Boila, R.J., Teather, R.M., Mahadevan, S., y Sauer, F.D. 1982. Effect of pH on fermentation characteristics and protein degradation by rumen microorganisms in vitro. *J Dairy Sci.* 65: 1457-1464
- Erickson, G.E., Klopfenstein, T.J., Adams, D.C. y Rasby, R.J. 2012. *Corn Processing Co-products manual: A review of current research on distiller's grains and corn gluten.* University of Nebraska-Lincoln Nebraska Corn Board.
- Eugène, M., Martin, C., Mialon, M. M., Krauss, D., Renand, G., y Doreau, M. 2011. Dietary linseed and starch supplementation decreases methane production of fattening bulls. *Animal Feed Science and Technology*, 166–167: 330–337.
- Felix, T.L. 2011. *Eliminating barriers to increased distillers grains use in ruminant diets (Doctoral dissertation, The Ohio State University).*
- Ferlay, A., y Doreau, M. 1992. Influence of method of administration of rapeseed oil in dairy cows. 1. Digestion of non-lipid components. *J. Dairy Sci.* 75: 3020-3027.
- Fieser, B.G., y Vanzant, E.S. 2004. Interactions between supplement energy source and tall fescue hay maturity on forage utilization by beef steers. *Journal of Animal Science*, 82: 307–318.
- Gadberry, M.S., Beck, P.A., Morgan, M., Hubbell, D. III, Butterbaugh, J., y Rudolph, B. 2010. Effect of dried distiller's grains supplementation on calves grazing bermudagrass pasture or fed low-quality hay. *The Professional Animal Scientist.* 26: 347–355.
- Galbe, M., y Zacchi, G. 2002. Simulation of ethanol production processes based on enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials using ASPEN PLUS. *Applied biochemistry and biotechnology*, 34: 93-104.

- Garcés-Yépez, P., Kunkle, W.E., Bates, D. B., Moore, J.E., Thatcher, W.W. y Sollenberger, L.E. 1997. Effects of supplemental energy source and amount on forage intake and performance by steers and intake and diet digestibility by sheep. *Journal of Animal Science*, 75:1918-1925.
- Garleb, K.A.; Fahey, G.C. Jr.; Lewis, S.M.; Kerley, M.S.; y Montgomery, L. 1988. Chemical composition and digestibility of fiber fractions of certain by-product feedstuffs fed to ruminants. *Journal of Animal Science*, 66:2650.
- Gere, J.I., y Gratton, R. 2010. Simple, low-cost flow controllers for time averaged atmospheric sampling and other applications. *Latin American Applied Research*, 40: 377–381.
- Graham, D.E., y White, R.H. 2002. Elucidation of methanogenic coenzyme biosyntheses: from spectroscopy to genomics. *Natural Product Reports*, 19: 133–147.
- Grainger, C., y 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.
- Goes, R.H.T.B., Mancio, A.B., Lana, R.P., Cecon, P.R. Alves, D.D., Freitas, T.B. y Brabes, K.C.S. 2010. Protein and energy supplementation for growing steers, in dry season. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim*, 11:1081-1094.
- Gould, D.H. 1998. Polioencephalomalacia. *Journal of Animal Science*, 76:309-314.
- Grant, R.J. 1994. Influence of Corn and Sorghum Starch on the In Vitro Kinetics of Forage Fiber Digestion. *J Dairy Sci*, 77:1563-1569.
- Griffin, W.A., Bremer, V.R., Klopfenstein, T.J., Stalker, L.A., y Lomas, L.W. 2012. A meta-analysis evaluation of supplementing dried distillers grains plus solubles to cattle consuming forage-based diets. *The Professional Animal Scientist*, 28: 306–312.
- Gunn, P.J., Weaver, A.D., Lemenager, R.P., Gerrard, D.E., Claeys, M.C. y Lake, S.L. 2009. Effects of dietary fat and crude protein on feedlot performance, carcass characteristics, and meat quality in finishing steers fed differing levels of dried distiller's grains with solubles. *Journal of Animal Science*, 87: 2882–2890.

- Gustad, K.H., Klopfenstein, T.J., Erickson, G.E., Vander Pol, K. J., Macdonald, J.C., y Greenquist, M. A. 2006. Dried distillers grains supplementation of calves grazing corn residue. *Nebraska Beef Cattle Reports*, 1: 36–37.
- Guyader, J. 2015. Manipulation of the hydrogen pool available in the rumen to reduce methane emissions from ruminants (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).
- Hales, K E., Cole, N.A., y MacDonald, J.C. 2012. Effects of corn processing method and dietary inclusion of wet distillers grains with solubles on energy metabolism, carbon-nitrogen balance, and methane emissions of cattle. *Journal of Animal Science*, 90: 3174–3185.
- Hammond, K.J. 2011. Methane emissions from ruminant fed white clover and perennial ryegrass forages. Doctor of Philosophy in Animal Science Thesis, Massey University, Palmerton North, New Zealand.
- Hegarty, R.S. 1997. Nutritional management options to reduce enteric methane emissions from NSW beef and dairy herds. In *Proceedings of the 24th Annual Conference of the Grassland Society of NSW* (pp. 40–45).
- Heldt, J.S., Cochran, R.C., Stokka, G.L., Farmer, C.G., Mathis, C.P., Titgemeyer, E.C., y Nagaraja, T.G. 1999. Effects of different supplemental sugars and starch fed in combination with degradable intake protein on low-quality forage use by beef steers. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 77: 2793–2802.
- Henderson, C. 1973. The effects of fatty acids on pure cultures of rumen bacteria. *The Journal of Agricultural Science*, 81: 107-112.
- Hennessy, D.W., Williamson, P.J., Nolan, J.V., Kempton, T.J. y Leng. R.A. 1983. The roles of energy- or protein-rich supplements in the subtropics for young cattle consuming basal diets that are low in digestible energy or protein. *J. Agric. Sci. (Camb.)*, 100: 657–666.
- Henning, P.A., Van Der Linden, Y., Mattheyse, M.E., Nauhaus, W.K., Schwartz, H.M., y Gilchrist, F.M.C. 1980. Factors affecting the intake and digestion of roughage by sheep fed maize straw supplemented with maize grain. *The Journal of Agricultural Science*, 94: 565–573.
- Hersom, M.J. 2008. Opportunities to enhance performance and efficiency through nutrient synchrony in forage-fed ruminants. *Journal of Animal Science*, 86: 306-317.

- Hersom, M.J., Boss, D.L., Wagner, J.J., Zinn, R.A., y Branine, M.E. 2010. Alphanorma Beef Cattle Nutrition Symposium: Alternative energy sources for beef cattle finishing diets. *Journal of Animal Science*, 88: 121–122.
- Hess, B.W., Moss, G.E., y Rule, D.C. 2008. A decade of developments in the area of fat supplementation research with 2 beef cattle and sheep. *Journal of Animal Science*, 86: 188-204.
- Hindrichsen, I.K., Wettstein, H.R., Machmüller, A., Soliva, C.R., Bach Knudsen, K.E., Madsen, J., y Kreuzer, M. 2004. Effects of feed carbohydrates with contrasting properties on rumen fermentation and methane release in vitro. *Canadian Journal of Animal Science*, 84: 265–276.
- Hindrichsen, I.K., Wettstein, H.R., Machmüller, A., Jörg, B., y Kreuzer, M. 2005. Effect of the carbohydrate composition of feed concentrates on methane emission from dairy cows and their slurry. *Environmental Monitoring and Assessment*, 107: 329–50.
- Hindrichsen, I.K., Wettstein, H.R., Machmüller, A., y Kreuzer, M. 2006. Methane emission, nutrient degradation and nitrogen turnover in dairy cows and their slurry at different milk production scenarios with and without concentrate supplementation. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 113: 150–161.
- Hindrichsen, I.K., y Kreuzer, M. 2009. High methanogenic potential of sucrose compared with starch at high ruminal pH. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 93: 61–5.
- Holt, S.M. y Pritchard, R.H. 2004. Composition and nutritive value of corn co-products from dry milling ethanol plants. *South Dakota Beef Rep.*, 1: 1–7.
- Hoover, W.H. 1986. Chemical Factors Involved in Ruminant Fiber Digestion. *J Dairy Sci*, 69: 2755-2766.
- Hünerberg, M., McGinn, S.M., Beauchemin, K.A., Okine, E.K., Harstad, O.M., y McAllister, T. 2013. Effect of dried distillers grains plus solubles on enteric methane emissions and nitrogen excretion from growing beef cattle. *Journal of Animal Science*, 91: 2846–2857.
- IERAL Fundación Mediterránea 2014. La demanda de maíz en Argentina: caracterización por actividad y provincia. Documento de Trabajo. Año 20 - Edición N° 138 – 25 de Marzo de 2014.

- Ikwuegbu, O.A. y Sutton, I.D., 1982. The effect of varying the amount of linseed oil supplementation on rumen metabolism in sheep. *Br. J. Nutr.*, 48: 365-375.
- Instituto Nacional de tecnología Agropecuaria (INTA). 2013. Guía para cuidado y uso de animales de experimentación.
- Immig, I. 1996. The rumen and hindgut as source of ruminant methanogenesis. *Environmental monitoring and assessment*, 42: 57–72.
- INFOSTAT: InfoStat software estadístico InfoStat versión Profesional 2016, Manual de usuario, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, 2016.
- Islas, A. y Soto-Navarro, S.A. 2011. Effect of supplementation of dried distillers grains with solubles on forage intake and characteristics of digestion of beef heifers grazing small-grain pasture. *Journal of Animal Science*, 89: 1229–1237.
- Janicek, B.N., Kononoff, P.J., Gehman, A.M. y Doane, P.H. 2008. The effect of feeding dried distillers grains plus solubles on milk production and excretion of urinary purine derivatives. *J. Dairy Sci.* 91:3544–3553.
- Jenkins, T.C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 76:3851-3863.
- Jenkins, T.C. 1997. Ruminal fermentation and nutrient digestion in sheep fed hydroxyethylsoyamide. *Journal of Animal Science*, 75: 2277–2283.
- Jenkins, T.C., Thompson, C.E. y Bridges Jr, W.C. 2000. Site of administration and duration of feeding oleamide to cattle on feed intake and ruminal fatty acid concentrations. *Journal of Animal Science*, 78:2745–2753.
- Jenkins, T.C. y Adams, C.S. 2002. The biohydrogenation of linoleamide in vitro and its effects on linoleic acid concentration in duodenal contents of sheep. *Journal of Animal Science*, 80:533–540.
- Jenkins, T.C., Klein, C.M., y Lee, Y.J. 2009. New insights on the pathways of lipid biohydrogenation in the rumen with possible implications on animal performance. In 24th Southwest Nutrition and Management Conference.
- Johnson, K., Huyler, M., Westberg, H., Lamb, B., y Zimmerman, P. 1994: Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a SF6 tracer technique. *Environmental Science and Technology*, 28: 359-362.
- Johnson, K.A., y Johnson, D.E. 1995. Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 73: 2483–92.

- Kemp, P., White, R.W., y Lander, D.J. 1975. The hydrogenation of unsaturated fatty acids by five bacterial isolates from the sheep rumen, including a new species. *J. Gen. Microbiol.*, 90:100-114
- Kennedy, P.M., y Milligan, L.P. 1978. Effects of cold exposure on digestion, microbial synthesis and nitrogen transformations in sheep. *The British journal of nutrition*, 39: 105–17.
- Kennedy, D.W., y Bunting, L.D. 1992. Effects of starch on ruminal fermentation and detergent fibre digestion in lambs fed bermudagrass hay. *Animal Feed Science and Technology*, 36: 91-100.
- Kepler, C.R., Hirons, K.P., McNeill, J.J., y Tove, S.B. 1966. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.*, 241:1350-1354.
- Kerr, B.J., Dozier, W.A.I., y Shurson, G.C. 2013. Effects of DDGS nutrient composition (reduced-oil) on digestible and metabolizable energy value and prediction in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 91: 3231–3243.
- Keweloh, H., y Heipieper, H.J. 1996. Trans unsaturated fatty acids in bacteria. *Lipids*, 31: 129-137.
- Kirchgessner, M.; Windisch, W.; y Muller, H.L. 1995. Nutritional factors for the quantification of methane production In *Ruminant physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction*. Proceedings of 8th international symposium of ruminant physiology. pp 291-315.
- Kleinschmit, D.H., Schingoethe, D.J., Kalscheur, K.F. y Hippen, A.R. 2006. Evaluation of various sources of corn dried distillers grains plus solubles for lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 89: 4784.
- Klevesahl, E.A., Cochran, R.C., Titgemeyer, E.C., Wickersham, T.A., Farmer, C.G., Arroquy, J.I., y Johnson, D.E. 2003. Effect of a wide range in the ratio of supplemental rumen degradable protein to starch on utilization of low-quality, grass hay by beef steers. *Animal Feed Science and Technology*, 105: 5–20.
- Klopfenstein, T.J. 1996. Distillers grains as an energy source and effect of drying on protein availability. *Animal feed science and technology*, 60: 201-207.
- Klopfenstein, T.J. 2001. Distillers grains for beef cattle. Presented at the National Corn Growers Association, Ethanol Co-Products Workshop, Lincoln, NE, Nov. 7.

- Klopfenstein, T.J., Erickson, G.E., y Bremer, V.R. 2008. BOARD-INVITED REVIEW: Use of distillers by-products in the beef cattle feeding industry. *Journal of Animal Science*, 86: 1223-1231.
- Kononoff, P.J. y Erickson, G.E. 2006. Feeding corn milling co-products to dairy and beef cattle. 21st Annual SW Nutrition and Management Conf., Tempe, AZ.
- Köster, H.H., Cochran, R.C., Titgemeyer, E.C., Vanzant, E.S., Abdelgadir, I. y St-Jean, G. 1996. Effect of increasing degradable intake protein on intake and digestion of low-quality, tallgrass-prairie forage by beef cows. *Journal of Animal Science*, 74: 2473-2481.
- Kriss M. 1930. Quantitative relations of the dry matter of the food consumed, the heat production, the gaseous outgo and the insensible loss in body weight of cattle. *Journal of Agricultural Research*, 40: 283.
- Kuceva, C.D., Balbuena, O. Slanac, A.L., Schreiner, J., Somma de Feré, G.AY, Rochinotti, D. 2001. Efecto del nivel de semilla de algodón en el suplemento sobre el consumo de heno en novillos. *Revista Argentina de Producción Animal Vol. 21 Supl 1. NA 4 pp: 5 – 6.*
- Kuceva, D., Balbuena, O., Mónaco, I. 2013. Cáscara de soja como suplemento en bovinos de recría. *Proyecto Nacional de Nutrición Animal: cartera de proyectos 2009-2012.- Buenos Aires: Ediciones INTA, 2013. pp 31-37.*
- Kunkel, J.L. 2011. Effect of protein supplementation and forage quality on intake and digestion in cattle. Texas A&M University.
- Kunkle, W.E., Johns, J.T., Poore, M.H., y Herd, D.B. 2000. Designing supplementation programs for beef cattle fed forage-based diets. *Journal of Animal Science*, 77: 1-11.
- Lalman, D.L., Petersen, M.K., Ansotegui, R.P., Tess, M.W., Clark, C. K. y Wiley, J.S. 1993. The effects of ruminally undegradable protein, propionic acid, and monensin on puberty and pregnancy in beef heifers. *Journal of Animal Science*, 71: 2843–2852.
- Lana, R.P., Russell, J.B., y Van Amburgh, M.E. 1998. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. *Journal of Animal Science*, 76: 2190–2196.

- Larson, E.M., Stock, R.A., Klopfenstein, T.J., Sindt, M.H., y Huffman, R.P. 1993. Feeding value of wet distillers byproducts for finishing ruminants. *Journal of Animal Science*, 71: 2228–36.
- Lassey, K.R. 2007. Livestock methane emission: From the individual grazing animal through national inventories to the global methane cycle. *Agricultural and Forest Meteorology*, 142: 120–132.
- Leng, R.A. 1990. Factors affecting utilization of poor quality forages by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutr. Res. Rev.*, 3: 277-303.
- Leng, R.A. 1991. Improving ruminant production and reducing methane emissions from ruminants by strategic supplementation. United States Environmental Protection Agency, Office of Air and Radiation.
- Leslie, M., Aspin, M., y Clark, H. 2008: Greenhouse gas emission from New Zealand agriculture: issues, perspectives and industry response. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48: 1-5.
- Leupp, J. L., Lardy, G.P., Karges, K.K., Gibson, M.L. y Caton, J.S. 2009. Effects of increasing level of corn distillers dried grains with solubles on intake, digestion, and ruminal fermentation in steers fed seventy percent concentrate diets. *Journal of Animal Science*, 87: 2906–2912.
- Li, C., Li, J.Q., Yang, W.Z., y Beauchemin, K.A. 2012. Ruminal and intestinal amino acid digestion of distiller's grain vary with grain source and milling process. *Animal Feed Science and Technology*, 175: 121–130.
- Liu, K.S. 2011. Chemical composition of distillers grains, a review. *J. Agric. Food Chem.*, 59: 1508–1526.
- Lodge, S.L., Stock, R.A., Klopfenstein, T.J., Shain, D.H. y Herold, D.W. 1997. Evaluation of wet distillers composite for finishing ruminants. *Journal of Animal Science*, 75: 44–50.
- López, A., Arroquy, J.I., Juárez Sequeira, A.V., García, M., Nazareno, M., Coria, H., y Distel, R.A. 2014. Effect of protein supplementation on tropical grass hay utilization by beef steers drinking saline water. *Journal of Animal Science*, 92: 2152-2160.
- Loy, T.W., MacDonald, J.C., Klopfenstein, T.J. y Erickson, G.E. 2007. Effect of distillers grains or corn supplementation frequency on forage intake and digestibility. *Journal of Animal Science*, 85: 2625–30.

- MacDonald, J.C., Klopfenstein, T.J., Erickson, G.E., y Griffin, W.A. 2007. Effects of dried distillers grains and equivalent undegradable intake protein or ether extract on performance and forage intake of heifers grazing smooth bromegrass pastures. *Journal of Animal Science*, 85: 2614-2624.
- Maczulak, A.E., Dehority, B.A. y Palmquist, D.L. 1981. Effects of long chain fatty acids on growth of bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 42:856-861.
- Maia, M.R., Chaudhary, L.C., Figueres, L., y Wallace, R.J. 2007. Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 91: 303-314.
- Margan, D.E., Faichney, G.J., Graham, N.M., y Donnelly, J.B. 1982. Digestion of a ground and pelleted diet in the stomach and intestines of young sheep from two breeds. *Australian Journal of Agricultural Research*, 33: 617–627.
- Margan, D.E., Graham, N.M., Minson, D.J., y Searle, T.W. 1988. Energy and protein values of four forages, including a comparison between tropical and temperate species. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 28. 729–736.
- Marston, T.T., Lusby, K.S., Wettemann, R.P., y Purvis, H.T. 1995. Effects of feeding energy or protein supplements before or after calving on performance of spring-calving cows grazing native range. *Journal of Animal Science*, 73: 657–664.
- Martínez Marín, A.L., Pérez Hernández, M., Pérez Alba, L., Gómez Castro, G., y Carrión Pardo, D. 2011. Efecto de las fuentes de grasa sobre la digestión de la fibra en los rumiantes (Effect of fat sources on fiber digestion in ruminants). *REDVET*.
- Martínez-Pérez, M.F., Calderón-Mendoza, D., Islas, A., Encinias, A.M., Loya-Olguín, F., y Soto-Navarro, S.A. 2013. Effect of corn dry distiller grains plus solubles supplementation level on performance and digestion characteristics of steers grazing native range during forage growing season. *Journal of Animal Science*, 91: 1350-1361.
- Mathis, C.P., Cochran, R.C., Stokka, G. L., Heldt, J.S., Woods, B.C. y Olson K.C. 1999. Impacts of increasing amounts of supplemental soybean meal on intake and digestion by beef steers and performance by beef cows consuming low-quality tallgrass prairie forage. *Journal of Animal Science*, 77: 3156-3162.
- Mathis, C.P., Cochran, R.C., Heldt, J.S., Woods, B.C., Abdelgadir, I.E., Olson, K.C., Titgemeyer, E.C. y Vanzant, E.S. 2000. Effects of supplemental degradable intake

- protein on utilization of medium-to low-quality forages. *Journal of Animal Science*, 78: 224-232.
- McAllister, T.A., Okine, E.K., Mathison, G.W., y Cheng, K.J. 1996. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, 76: 231–243.
- McCollum, F.T., y Galyean, M.L. 1985. Influence of cottonseed meal supplementation on voluntary intake, rumen fermentation and rate of passage of prairie hay in beef steers. *Journal of Animal Science*, 60: 570–577.
- McCraib, G.J., y Hunter, R.A., 1999. Prediction of methane emissions from beef cattle in tropical production systems. *Aust. J. Agric. Res.* 50: 1335–1339.
- McDonald, I.W. 1954. The extent of conversion of feed protein to microbial protein in the rumen of sheep. *Biochem. J.*, 56:120–125.
- McGinn, S.M., Chung, Y.H., Beauchemin, K.A., Iwaasa, A.D., y Grainger, C. 2009. Use of corn distillers' dried grains to reduce enteric methane loss from beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 89: 409–413.
- McKinnon, J.J., Olubobokun, J.A., Christensen, D.A. y Cohen, R.D.H. 1991. The influence of heat and chemical treatment on ruminal disappearance of canola meal. *Can. J. Anim. Sci.*, 71: 773–780.
- Milford, R. y Minson, D.J. 1965. Intake of tropical pasture species. In: *Proc. 9th Int. Grasslands Congress*, São Paulo, Brazil.
- Mills, J.A.N., Dijkstra, J., Bannink, A., Cammell, S.B., Kebreab, E., y France, J. 2001. A mechanistic model of whole-tract digestion and methanogenesis in the lactating dairy cow: model development, evaluation, and application. *Journal of Animal Science*, 79: 1584–1597.
- Mills, J.A.N., Kebreab, E., Yates, C.M., Crompton, L.A., Cammell, S.B., Dhanoa, M.S., Agnew, R.E. y France, J. 2003. Alternative approaches to predicting methane emissions from dairy cows. *Journal of Animal Science*, 81: 3141–3150.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. 2014. Cálculo del consumo interno de maíz en Argentina. Dirección Nacional de Información y Mercados Octubre 2014.
- Minson DJ. 1990. *Forage in Ruminant Nutrition*. New York, NY: Academic Press.

- Mirzaei-Aghsaghali, A. y Maheri-Sis, N. 2011. Factors affecting mitigation of methane emission from ruminants I: Feeding strategies. *Asian Journal of Animal & Veterinary Advances*, 7:1-11.
- Moe, P.W., y Tyrrell, H.F. 1979. Methane Production in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 62: 1583–1586.
- Molano, G. y Clark, H. 2008. The effect of level of intake and forage quality on methane production by sheep, *Australian Journal of Experimental Agriculture* 48: 219-222.
- Moller, P.D., 1968: Undersegelser over fodringens indflydelse pa vomgretingen og rruelkens fedtprocent. *Landek, Forseslab, Arbog*: 516-533.
- Monteny, G.J., Bannink, A., y Chadwick, D. 2006. Greenhouse gas abatement strategies for animal husbandry. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 112: 163–170.
- Montgomery, S.P., Drouillard, J.S., Nagaraja, T.G., Titgemeyer, E.C. y Sindt, J.J. 2008. Effects of supplemental fat source on nutrient digestion and ruminal fermentation in steers. *Journal of Animal Science*, 86: 640-650.
- Moore, J.E., Brant, M.H., Kunkle, W.E. y Hopkins, D.I. 1999. Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility, and animal performance. *Journal of Animal Science*, 77: 122-135.
- Morris, S., Klopfenstein, T.J., Adams, D.C., Erickson, G.E., y Vander Pol, K.J. 2005. The effects of dried distillers grains on heifers consuming low or high quality forage. *Beef*: 18–20.
- Moss, A.R., Jouany, J.P., y Newbold, J. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de Zootechnie*, 49:231–253.
- Mould, F.L. y Ørskov, E.R. 1983. Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in sacco, dry matter degradation and the ruminal microflora of sheep offered either hay or concentrate. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 10: 1–14.
- Mould, F.L., Ørskov, E.R. y Mann, S.O. 1983. Associative effects of mixed feeds. I. Effect of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion on various roughages. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 10:15–30.

- Mourino, F., Akkarowangsa, R., y Weimer, P.J. 2001. Initial pH as a determinant of cellulose digestion rate by mixed ruminal microorganisms in vitro. *J. Dairy Sci.*, 84: 848-859.
- Munger, A. y Kreuzer, M. 2006. Methane emission as determined in contrasting dairy cattle breeds over the reproduction cycle, *International Congress Series*, 1293: 119-122.
- Murillo, M., Herrera, E., Ruiz, O., Reyes, O., Carrete, F.O., y Gutierrez, H. 2016. Effect of supplemental corn dried distillers grains with solubles fed to beef steers grazing native rangeland during the forage dormant season. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29: 666.
- Murray, R.M., Bryant, A.M., y Leng, R.A. 1976. Rates of production of methane in the rumen and large intestine of sheep. *Department of biochemistry and nutrition, school of rural science*, 36: 1-14.
- Nagaraja, T.G., Newbold, C.J., Ven Nevel, C.J. y Demeyer, D.I. 1997. Manipulation of ruminal fermentation. Pages 523-632 in *The Rumen Microbial Ecosystem*, P. N. Hubson and C. S. Stewart, ed. Blackie Acad. and Prof., an imprint of Chapman and Hall, London, UK.
- Neto, G.B., Berndt, A., Nogueira, J.R., Demarchi, J.J. A.A., y Nogueira, J.C. 2009. Monensin and protein supplements on methane production and rumen protozoa in bovine fed low quality forage. *South African Journal of Animal Science*, 39: 280-283.
- NRC. 1985. *Ruminant Nitrogen Usage*. Natl. Acad. Press. Washington, DC.
- NRC. 1996. *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- NRC. 2000. *Nutrient Requirements of Beef Steers*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- NRC. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. National Academy Press. Washington, D.C. 381 pp.
- Nuez Ortín, W.G., e Yu, P. 2009. Nutrient variation and availability of wheat DDGS, corn DDGS and blend DDGS from bioethanol plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89: 1754-1761.

- Nuttelman, B.L., Klopfenstein, T.J., Erickson, G.E., Griffin, W.A. y Luebke, M.K. 2008. Effects of supplementing wet distillers grains mixed with wheat straw to growing steers. *Nebraska Beef Cattle Rep.* MP 91:29.
- Nuttelman, B.L. 2013. Effects of drying distillers grains plus solubles on feedlot cattle performance and nutrient digestibility.
- Okine, E.K., Mathison, G.W., y Hardin, R.T. 1989. Effects of changes in frequency of reticular contractions on fluid and particulate passage rates in cattle. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 67: 3388–3396.
- O'Mara, F.P. 2011. The significance of livestock as a contributor to global greenhouse gas emissions today and in the near future. *Animal Feed Science and Technology*, 166-167: 7–15.
- Palmer, M.D., y Olson, K.C. 2000. Influence of supplemental protein degradability on energy utilization and methane emission by beef cows on dormant, cool-season forages. In *Proceedings-American Society of Animal Science Western Section*, 51: 299-302.
- Palmquist, D.L. y Jenkins, T.C. 1980. Fat in Lactation Rations^{1,2}: Review. *Journal of Dairy Science*, 63:1–14.
- Paulino, M.F., Detmann, E., Valente, E.E.L., y Barros, L.V. 2008. Nutrição de bovinos em pastejo. In: *Proceedings of the 4th Symposium on Strategic Management of Pasture*, Viçosa, Brazil. pp. 131–169.
- Paterson, J.A., Cochran, R.C., y Klopfenstein, T.J. 1996. Degradable and undegradable protein responses of cattle consuming forage-based diets. In: M.B. Judkins and F. T. McCollum III (Eds.). *Proc. 3rd Grazing Livest. Nutr. Conf. Proc. West. Sec. Amer. Soc. Anim. Sci.*, 47: 94-103.
- Pelchen, A. y Peters, K.J. 1998. Methane emissions from sheep. *Small Rumin. Res.*, 27: 137-150.
- Pinares-Patiño, C., Gere, J., Williams, K., Gratton, R., Juliarena, P., Molano, G., MacLean, S., Sandoval, E., Taylor, G., y Koolaard, J. 2012. Extending the collection duration of breath samples for enteric methane emission estimation using the SF6 tracer technique. *Animals*, 2: 275–287.
- Polan, C.E., McNeill, J.J., y Tove, S.B. 1964. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by rumen bacteria. *J. Bacteriol.*, 88:1056-1064.

- Prevost, J., y Hammond, N. 2004. U.S. Patent No. 20,040,082,044. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Ramin, M., y Huhtanen, P. 2013. Development of equations for predicting methane emissions from ruminants. *Journal of dairy science*, 96: 1–18.
- Ranathunga, S.D., Kalscheur, K.F., Hippen, A.R., y Schingoethe, D.J. 2010. Replacement of starch from corn with nonforage fiber from distillers grains and soyhulls in diets of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93: 1086–97.
- Reis, R.B., Emeterio, F.S., Combs, D.K., Satter, L.D., y Costa, H.N. 2001. Effects of corn particle size and source on performance of lactating cows fed direct-cut grass-legume forage. *Journal of Dairy Science*, 84: 429–441.
- Reynolds, C.K., Tyrrell, H.F., y Reynolds, P.J. 1991. Effects of diet forage-to-concentrate ratio and intake on energy metabolism in growing beef heifers: whole body energy and nitrogen balance and visceral heat production. *The Journal of Nutrition*, 121: 994-1003.
- Rittenhouse, L.R., Clanton, D.C., y Streeter, C.L. 1970. Intake and digestibility of winter-range forage by cattle with and without supplements. *Journal of Animal Science*, 31: 1215.
- Rogers, E., y Whitman, B. 1991. Global change, international politics and anaerobic metabolism. *American Society for Microbiology*, 8: 1992–1994.
- Rouviere, P.E., y Wolfe, R.S. 1988. Novel biochemistry of methanogenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 263: 7913-7916.
- Russell, J.B., y Wallace, R.J., 1997. Energy-yielding and energy-consuming reactions. In: Hobson, P.N., Stewart, C.S. (Eds.), *The Rumen Microbial Ecosystem*. , 2nd ed. Chapman & Hall, London, UK, pp. 246–282.
- Salado, E.E., Fumagalli, A.E. 2003. Suplementación energético-proteica de novillos sobre Gatton panic. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 23:Supl.1, 5-6.
- Sampaio, C.B., Detmann, E., Paulino, M.F., Valadares Filho, S.C., Souza, M.A., Lazzarini, I., Paulino, P.V.R., y Queiroz, A.C., 2010. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. *Trop. Anim. Health Prod.*, 42: 1471–1479.

- Sampedro, D.H., Vogel, O, Celser, R. 1998. Efectos de la suplementación invernal y/o primaveral sobre la ganancia de peso de vaquillonas en pasturas naturales. *Rev. Arg. Prod. Anim.* 18: Supl. 1, p. 43.
- Sanson, D.W., Clanton, D.C., y Rush, I.G. 1990. Intake and digestion of low-quality meadow hay by steers and performance of cows on native range when fed protein supplements containing various levels of corn. *Journal of Animal Science*, 68: 595–603.
- Sayer, K.M. 2004. Effects of corn bran and steep inclusion in finishing diets on cattle performance, nutrient mass balance, and diet digestibility. MS Thesis University of Nebraska, Lincoln.
- Schoonmaker, J.P., Trenkle, A.H., y Beitz, D.C. 2010. Effect of feeding wet distillers grains on performance, marbling deposition, and fatty acid content of beef from steers fed low- or high-forage diets. *Journal of Animal Science*, 88: 3657–3665.
- Scott, R.R., y Hibberd, C.A. 1990. Incremental levels of supplemental ruminal degradable protein for beef cows fed low quality native grass hay. MP-129, p 57. Oklahoma State Univ. Animal Sci. Res. Rep.
- Servicio Nacional de Sanidad y calidad agroalimentaria (SENASA). 2014. Existencias bovinas.
- Shurson, J., y Noll, S. 2005. Feed and alternative uses for DDGS. In *Proceeding of the 2005 Energy from Agriculture Conference*, St. Louis, MO, USA (pp. 14-15).
- Silva, A.T. y Ørskov, E.R. 1988. Fibre degradation in the rumens of animal receiving hay, untreated or ammonia-treated straw. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 19: 277-287.
- Slanac, A.L., Balbuena, O., Kucseva, C.D., Stahringer, R.C. 2007. Efectos de la suplementación proteica invernal sobre parámetros productivos de vaquillas de reposición. *Rev. vet.* 18: 1, 24–28.
- Smith, C.D., Whittier, J.C., Schutz, D.N., y Couch, D. 2001. Comparison of alfalfa hay and distillers dried grains with solubles, alone or in combination with cull beans, as protein sources for beef cows grazing native winter range. *The Professional Animal Scientists*, 17: 139–144.
- Souza, M.A., Detmann, E., Paulino, M.F., Sampaio, C.B., Lazzarini, I., y Valadares Filho, S.C., 2010. Intake, digestibility, and rumen dynamics of neutral detergent fiber in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogen and/or starch. *Trop. Anim. Health Prod.*, 42: 1299-1310.

- Spiehs M.J., Whitney, M.H. y Shurson, G.C. 2002. Nutrient database for distiller's dried grains with solubles produced from new ethanol plants in Minnesota and South Dakota. *Journal of Animal Science*, 80: 2639-2645.
- Stalker, L.A., Klopfenstein, T.J., Adams, D.C., y Erickson, G.E. 2004. Urea inclusion in forage based diets containing dried distillers grains. *Nebraska Beef Cattle Reports*, 4-6.
- Steele, J. D., Banta, J.P., Wettemann, R.P., Krehbiel, C.R. y Lalman, D.L. 2007. Drought-stressed soybean supplementation for beef cows. *Prof. Anim. Sci.*, 23: 358-365.
- Stefan, C.C. 2013. Effect of protein supplement sources on intake and digestion of steers fed low-quality forage. Texas A&M University.
- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M., y De Haan, C., 2006. *Livestock's long shadow: Environmental issues and options*. FAO, Rome, Italy, 390 pp.
- Steinfeld, H., y Wassenaar, T. 2007. The role of livestock production in carbon and nitrogen cycles. *Annu. Rev. Environ. Resour.*, 32:271-294.
- Stewart, C.S., Flint, H.J., y Bryant, M.P. 1997. The rumen bacteria. In the rumen microbial ecosystem (pp. 10-72). Springer Netherlands.
- Stock, R.A., Lewis, J.M., Klopfenstein, T.J., y Milton, C.T. 2000. Review of new information on the use of wet and dry milling feed by-products in feedlot diets. *Journal of Animal Science*, 77: 1-12.
- Tamminga, S. 1993. Influence of feeding management on ruminant fiber digestibility. In: Jung, H.G.; Buxton, D.R.; Hatfield, R.D. y Ralph, J. (Eds.) *Forage cell wall structure and digestibility*. p 571. Am. Soc. Agron., Madison, WI.
- Tang, S.C., Zulkifli, I., Ebrahimi, M., Alimon, A.R., Soleimani, A.F., y Filer, K. 2011. Effects of feeding different levels of corn dried distillers grains with solubles on growth performance, carcass yield and meat fatty acid composition in broiler chickens. *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, 3: 205-211.
- Tedeschi, L.O., Fox, D.G., y Russell, J.B. 2000. Accounting for ruminal deficiencies of nitrogen and branched-chain amino acids in the structure of the Cornell net carbohydrate and protein system. In *Proceedings of Cornell Nutrition Conference for*

- Feed Manufacturers, Rochester, NY. New York State College of Agriculture & Life Sciences, Cornell University (pp. 224-238).
- Titgemeyer, E.C. 2012. Importance of nitrogen recycling to beef cattle grazing low-protein forages. In Proceedings of the 23rd Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium. University of Florida, Gainesville, Florida.
- US Grain council 2012. A guide of Dry Distillers Grains. Third Edition.
- Ushida, K., Jouany, J.P. y Demeyer, D.I. 1991. Part 7. Microbiology. Effects of presence or absence of rumen protozoa on the efficiency of utilization of concentrate and fibrous feeds. In: Tsuda, T., Sasaki, Y. y Kawashima, R. (Eds), *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. Academic Press, Inc., San Diego, CA, pp. 625-654.
- Ushida, K., Umeda, M., Kishigami, N., y Kojima, Y. 1992. Effect fatty of medium-chain acid calcium and salts and on rumen microorganisms digestion fiber in sheep. *Animal Science Technology*, 63: 591–597.
- Uwituze, S., Parsons, G.L., Shelor, M.K., Depenbusch, B.E., Karges, K.K., Gibson, M.L., Reinhardt, C.D., Higgins, J.J., y Drouillard, J.S. 2010. Evaluation of dried distiller's grains and roughage source in steam-flaked corn finishing diets. *Journal of Animal Science*, 88: 258–274.
- Uwituze, S., Parsons, G.L., Karges, K.K., Gibson, M.L., Hollis, L.C., Higgins, J.J., y Drouillard, J.S. 2011. Effects of distillers grains with high sulfur concentration on ruminal fermentation and digestibility of finishing diets. *Journal of Animal Science*, 89: 2817–2828.
- Valente, E.E.L., Paulino, M.F., Detmann, E., Valadares Filho, S.C., Barros, L.V., Acedo, T.S., Couto, V.R.M y Lopes, A.S. 2011. Levels of multiple supplements or nitrogen salt for beef heifers in pasture during the dry season. *Rev. Bras. Zootec.*, 40:2011-2019.
- Van De Kerckhove, A.Y., Lardner, H.A., Yu, P., Mckinnon, J.J., y Walburger, K. 2011. Effect of dried distillers' grain, soybean meal and grain or canola meal and grain-based supplements on forage intake and digestibility. *Canadian Journal of Animal Science*, 91: 123–132.
- Van Soest, P.J. 2004. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2.ed: Cornell University Press, Ithaca, London.

- Warner, J.M., Martin, J.L., Hall, Z.C., Kovarik, L.M., Hanford, K.J., y Rasby, R.J. 2011. The effects of supplementing beef cows grazing cornstalk residue with a dried distillers grain based cube on cow and calf performance. *The Professional Animal Scientists*, 27: 540–546.
- Wickersham, T.A., Cochran, R.C., Titgemeyer, E.C., Farmer, C.G., Klevesahl, E.A., Arroquy, J.I., Johnson, D.E. y Gnad, D.P. 2004. Effect of postruminal protein supply on the response to ruminal protein supplementation in beef steers fed a low-quality grass hay. *Anim. Feed Sci. and Technol.*, 115:19-36.
- Wickersham, T.A., Titgemeyer, E.C., Cochran, R.C., Wickersham, E.E. y Gnad, D.P. 2008. Effect of rumen-degradable intake protein supplementation on urea kinetics and microbial use of re- cycled urea in steers consuming low-quality forage. *Journal of Animal Science*, 86: 3079–3088.
- Wickersham, T.A., Titgemeyer, E.C., Cochran, R.C., y Wickersham, E.E. 2009. Effect of undegradable intake protein supplementation on urea kinetics and microbial use of recycled urea in steers consuming low-quality forage. *Br. J. Nutr.*, 101:225-232.
- Wilson, J.R. 1994. Cell wall characteristics in relation to forage digestion by ruminants. *J. Agric. Sci.* 122, 173–182.
- Winterholler, S.J., Holland, B.P., McMurphy, C.P., Krehbiel, C.R., Horn, G.W., y Lalman, D.L. 2009. Use of dried distillers grains in preconditioning programs for weaned beef calves and subsequent impact on wheat pasture, feedlot, and carcass performance. *Professional Animal Scientist*, 25: 722–730.
- Winterholler, S.J., McMurphy, C.P., Mourer, G.L., Krehbiel, C.R., Horn, G.W., y Lalman, D.L. 2012. Supplementation of dried distillers grains with solubles to beef cows consuming low-quality forage during late gestation and early lactation. *Journal of Animal Science*, 90: 2014–2025.
- Yang, S.L., Bu, D.P., Wang, J.Q., Hu, Z.Y. Li, D., Wei, H.Y., Zhou, L.Y., y Looor, J.J. 2009. Soybean oil and linseed oil supplementation affect profiles of ruminal microorganisms in dairy cows. *Animal*, 3: 1562-1569.
- Ye, D. 2013. Examining the effects of adding fat, ionophores, essential oils, and *Megasphaera elsdenii* on ruminal fermentation with methods in vitro and in vivo. Ohio State University. Doctor of Philosophy Thesis.

ANEXO I. FIGURAS ADICIONALES

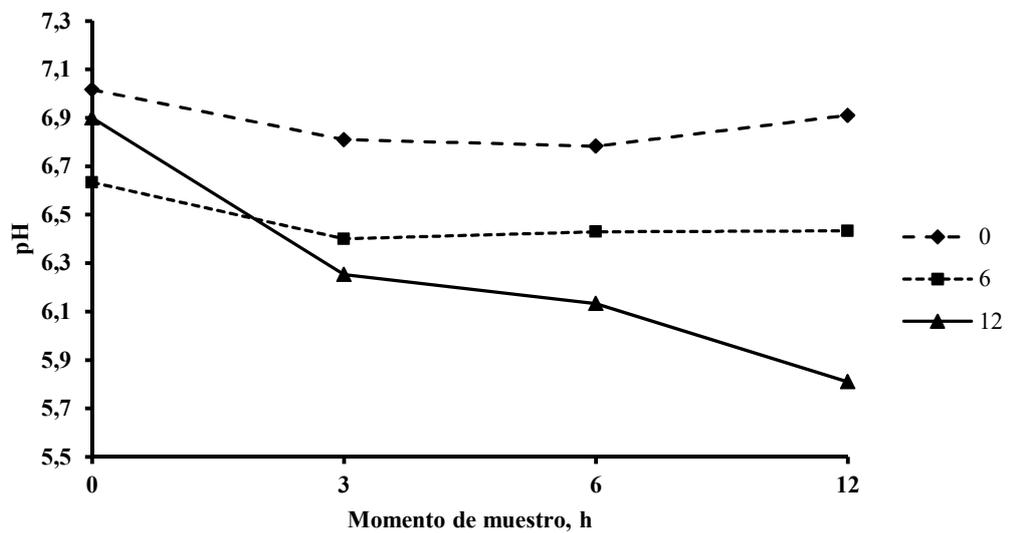


Figura 4. Efecto de la suplementación con DDGS sobre la dinámica del pH ruminal de novillos alimentados con *Panicum maximum* (cv. Gatton) diferido con niveles de suplementación de 0 (◆), 0,6 (■) y 1,2 (▲) g/kg PV, a las 0, 3, 6 y 12 horas post alimentación.

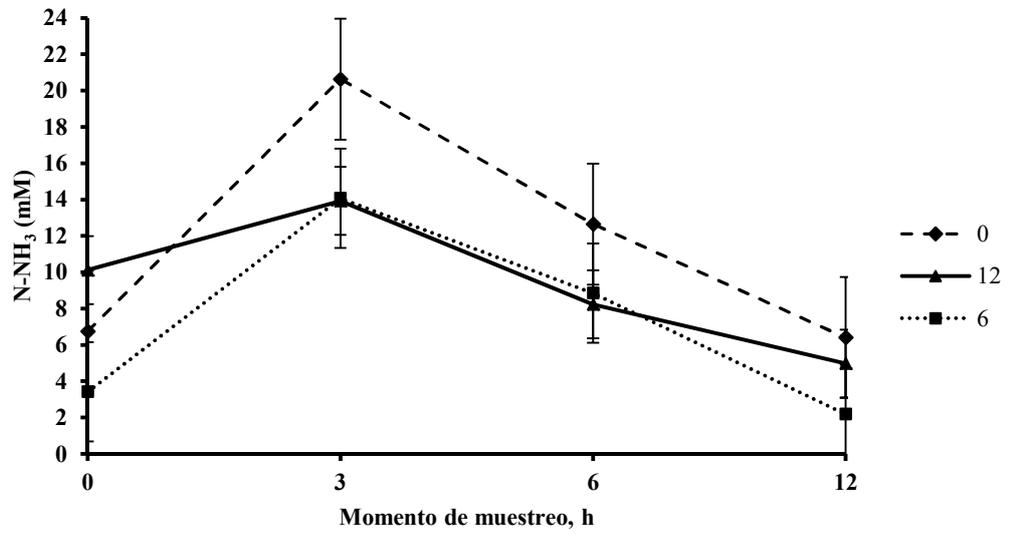


Figura 5. Efecto de la suplementación con DDGS sobre la dinámica de amonio ruminal en novillos alimentados con *Panicum maximum* (cv. Gatton) diferido porcentaje con niveles de suplementación con DDGS de 0 (♦), 0,6 (■) y 1,2 (▲) g/kg PV, a las 0, 3, 6 y 12 horas post alimentación.