

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Estrategias para reducir las emisiones de metano entérico en rumiantes

Strategies to reduce enteric methane emissions in ruminants

Diego Felipe Portela¹ , Daniel Cervantes Gomez¹ , José Carlos Escobar-España² ,
Paulino Sánchez-Santillán³ , Karym Roberto Curzaynz⁴ 

¹Núcleos y aditivos de los Altos S.A de C.V., Departamento de asesoría nutricional, ²Facultad de Ciencias Agrícolas, Campus IV, de la Universidad Autónoma de Chiapas, ³Universidad Autónoma de Guerrero, ⁴Instituto Tecnológico

de Tlajomulco.

*Autor de correspondencia: nnewpre2@gmail.com

Recibido: 09/10/2022 Aceptado: 23/11/2022 Publicado: 30/12/2022

Cómo citar este artículo:

Portela, D., Cervantes, D., Escobar-España, J., Sánchez-Santillán, P., y Curzaynz, K. (2022). Estrategias para reducir las emisiones de metano entérico en rumiantes. *Ciencias Agropecuarias*, 8(2): 49-61. <https://doi.org/10.36436/24223484.656>

Resumen

La simbiosis entre bacterias, hongos, protozoarios y arqueobacterias metanogénicas, mantiene un flujo constante del hidrógeno en el rumen para producir metano y ácidos grasos de cadena corta como parte de la degradación y fermentación del alimento. Como estrategia para reducir las emisiones entéricas de metano, se utilizan compuestos químicos —algunos extraídos de plantas— mismas que se utilizan en partes o en su totalidad y que se incluyen en la dieta, porque tienen la capacidad de afectar la compleja ecología ruminal y de esta forma, reducir la producción de metano entérico. Otras estrategias incluyen el manejo alimenticio y favorecen la degradación y fermentación del alimento al usar diferentes proporciones de ingredientes que hacen eficiente la producción de ácidos grasos de cadena corta y la síntesis de proteína microbiana. Se puede medir las emisiones entéricas de metano de forma directa con la técnica del detector láser, capaz de cuantificar el metano exhalado al aire presente cerca a la nariz y boca

del rumiante. Las mediciones indirectas, como la técnica con hexafluoruro de azufre utilizada en rumiantes en pastoreo no alteran su comportamiento natural. La clave de la mitigación de metano, es conocer las simbiosis entre los microorganismos ruminales y así establecer estrategias conjuntas con compuestos químicos y manejo alimenticio según las condiciones propias de cada producción. La presente revisión, tiene como objetivo presentar algunas de las estrategias para reducir las emisiones de metano entérico en rumiantes y sus efectos sobre las variables de fermentación ruminal y microbiota ruminal.

Palabras clave: Ganadería, microbiota, calentamiento global, hexafluoruro de azufre, detector laser.

Abstract

The symbiosis between bacteria, fungi, protozoans and methanogenic archaebacteria maintains a constant flow of hydrogen in the rumen to produce short-chain fatty acids and methane as part of the degradation and fermentation of feed. As a strategy to reduce enteric methane emissions, chemical compounds are used, some extracted from plants, which are used in their entirety or parts that are included in the diet and have the capacity to affect the complex rumen ecology and in this way reduce enteric methane production. Other strategies include food management and promote the degradation and fermentation of food by using different proportions of ingredients, which make the production of short-chain fatty acids and the synthesis of microbial protein efficient. Enteric methane emissions can be measured directly with the laser detector technique, capable of quantifying the methane exhaled into the air present near the nose and mouth of the ruminant. Indirect measurements, such as the sulfur hexafluoride technique used in grazing ruminants, do not alter their natural behavior. The key to methane mitigation is to know the symbioses between ruminal microorganisms and thus establish joint strategies with chemical compounds and food management according to the conditions of each production. The present review aims to present some of the strategies to reduce enteric methane emissions in ruminants and their effects on ruminal fermentation and rumen microbiota variables.

Keywords: Livestock, microbiota, global warming, sulfur hexafluoride, laser detector.

Introducción

La producción de alimento genera del 20 % al 30 % de las emisiones de gases de efecto invernadero, de las cuales, el 93 % se originan de la producción de carne y leche de rumiantes y se estima que una sola vaca produce por año, entre 154 y 264 libras de gas metano (CH₄) (1). De las emisiones promedio por consumo de carne de bovino, se produjo 402 kg de dióxido de carbono CO₂/persona en 2017, un 16 % mayor con relación al año 2000, con una producción de 380 kg CO₂/persona (1). La producción de CH₄ entérico en rumiantes representa una pérdida del 2 % al 12 % de la energía bruta del alimento y también tiene efectos ambientales menores por ser un gas efecto invernadero [gei]. (2, 3). En el rumen, la interacción entre arqueobacterias metanogénicas y protozoarios ciliados permite la formación de CH₄ y de ácidos grasos de cadena corta [agcc], que son productos importantes de la fermentación (4-6). Esta ectosimbiosis produce hasta el 37 % de las emisiones entéricas de CH₄ en rumiantes (7). Los protozoarios poseen hidrogenosomas —orgánulos en donde se produce hidrógeno durante la fermentación ruminal—, el cual utilizan las arqueobacterias metanogénicas como fuente de energía y generan CH₄ (8). que libera el animal en el eructo, durante la rumia, junto con el CO₂, que alcanza una acumulación de gases que se liberan en el eructo en el proceso de rumia (9). Al disminuir la producción de CH₄, se puede incrementar la

concentración de hidrógeno en rumen, el cual es utilizado en la formación de propionato (2, 10)the livestock industry has to increase its production. Without improving its efficiency, increased livestock, especially ruminant animals, will worsen the environmental damage, mainly from enteric CH₄ emission. Enteric CH₄ emission from ruminants not only exacerbates the global greenhouse effect but also reduces feed energy efficiency for the animals. The rumen disposes of metabolic hydrogen ([H]. Un alto contenido de carbohidratos estructurales en dietas que contiene una alta proporción de forraje genera una mayor cantidad de ácido acético y gas hidrógeno que puede ser utilizado para la producción de CH₄ (4). Como estrategia principal para la mitigación de las emisiones entéricas de CH₄ en rumiantes, existe la desfaunación ruminal (11). y se define como la eliminación de la población de protozoarios ciliados del rumen (12), lo que genera que se reduzca entre un 20 % a 42 % las emisiones de este gas efecto invernadero (10, 13). La desfaunación ruminal se puede lograr con el uso de productos químicos y aditivos alimenticios, que remueven la asociación arqueobacterias-ciliados (14), lo que disminuye la disponibilidad de hidrógeno usado para la metanogénesis (15).

La posible adaptación de los microorganismos y la incapacidad de mantener animales desfaunados por largos periodos, limitan las estrategias de mitigación de la emisiones entéricas de CH₄ en rumiantes (16). Entre los

métodos experimentales de mitigación de las emisiones de CH₄ en rumiantes, se encuentran: la creación de rebaños aislados libres de protozoarios (17), la identificación por selección genética de animales que produzcan menos emisiones entéricas de CH₄ (18), la vacunación y generación de anticuerpos salivales específicos contra metanógenos (19), el uso de bacteriófagos (10) y la inoculación de bacterias acetogénicas que pueden competir por el dióxido de carbono y el hidrógeno con las arqueobacterias metanogénicas (20, 21). Cuando los rumiantes son alimentados con dietas que contienen una alta proporción de forrajes de baja digestibilidad (alto contenido de carbohidratos estructurales) se genera una mayor cantidad de ácido acético y gas hidrógeno (4, 15), lo que a su vez, aumenta la cantidad de CH₄ producido por unidad de alimento digerido (22); y sucede lo contrario en dietas que contienen una mayor cantidad de granos o de carbohidratos de fácil fermentación, donde el ácido propiónico es el principal producto de la fermentación es (2, 23). Sumado a lo anterior, las dietas para rumiantes con mayor contenido de granos pueden causar una disminución de pH y pueden eliminar a los protozoarios ciliados y, en consecuencia, a las bacterias metanogénicas que viven adheridas a su ectodermo (24, 25). La dosificación de 4.75 % de aceite de coco en una dieta de engorde (50:50 forraje/concentrado) disminuye la producción de CH₄ en un 22 % –28.3 g/kg de materia seca [ms] consumida de con-

trol, frente a los 21.1 g/kg ms consumida con aceite; (26). El uso de plantas que contienen compuestos desfaunantes —como por ejemplo, taninos condensados, saponinas, alcaloides y aceites esenciales— reduce la disponibilidad de hidrógeno y además resultan nocivos para los protozoarios, sin embargo todavía se desconoce la dosis óptima, sus efectos a largo plazo y la posible deposición de sus residuos en carne y leche (27).

Estos metabolitos secundarios, también denominados fitoquímicos, se encuentran de forma natural en diferentes plantas y tienen potencial como aditivos para modificar la fermentación ruminal, favoreciendo procesos como la desfaunación y la inhibición de la metanogénesis (6, 28). Se ha demostrado que el uso del follaje y frutos de plantas arbóreas y poáceas forrajeras, que contienen taninos y saponinas, representan una alternativa potencial en la disminución de las emisiones de CH₄ (29-31), además de beneficiar el metabolismo ruminal del nitrógeno (13, 32).

La presente revisión, tiene como objetivo exponer algunas de las estrategias para reducir las emisiones de CH₄ entérico en rumiantes y sus efectos sobre las variables de fermentación ruminal, así como el efecto de estas alternativas sobre la microbiota ruminal y sus complejas interacciones. También se explican algunas técnicas para la medición de dichas emisiones, las cuales pueden ser utilizadas en investigación *in vivo*.

Estrategias de manipulación de la fermentación ruminal para reducir emisiones de CH₄

Uso de aceites esenciales, ácidos orgánicos y factores antinutricionales

Como subproducto de la refinación del aceite de palma, se produce goma con fosfolípidos [gf], la cual, tiene la capacidad de reducir la producción *in vitro* de CH₄ a 8 y 4 μ mol CH₄/g de sólido volátil, al ser incluida en un 25 % y un 50 % respectivamente (33). Por otro lado, al adicionar 0.8 ml de la mezcla de aceites esenciales /l medio de cultivo, provenientes de plantas como orégano (ORE; *Thymus capitatus*), romero (*Rosmarinus officinalis*) corteza de canela (*Cinnamomum zeylanicum* [CCB] y *Cinnamomum zeylanicum* Blume [CIB]): reducen ($P < 0.001$) la producción total de biogás ($\bar{X}$: 82.6 mL; $P < 0.001$), inhiben la producción de CH₄, reducen la producción total de ácidos grasos volátiles ($\bar{X}$: 15.2 mol/100mol; $P < 0.001$) y la Digestibilidad *In Vitro* de Materia Seca [divms] ($\bar{X}$: 0.40; $P < 0.001$) (2). Los taninos pueden estar presentes en diferentes partes de las plantas y al ser liberados afectan las emisiones entéricas de CH₄; el efecto estará limitado por la degradación ruminal del material vegetal que consuma el rumiante, por la liberación del compuesto y por la adherencia a los nutrientes presentes en la dieta (proteína) o absorción sanguínea (27, 34). El ácido propiónico aumenta ($p < 0.05$) a 25.4 mmol con el uso de 26 g de ácido tánico/kg ms y la producción de CH₄ disminuye ($p < 0.05$) a

5.4 l/kg Consumo de Materia Seca [cms], resultados que justifican la eficacia de esta alternativa *in vivo* para disminuir las emisiones entéricas en rumiantes (35). Algunas plantas que contienen flavonoides pueden disminuir la producción de CH₄; sin embargo, de forma simultánea pueden estimular el metabolismo microbiano (36, 37). Las saponinas pueden limitar la fermentación del alimento en el rumen, por tanto favorecen una ruta acetogénica que compite por el hidrógeno usado en la ruta metanogénica (38, 39). La actividad anti-metanogénica de las saponinas en el rumen puede estar relacionada con la limitación de hidrógeno, el cual es reutilizado en la formación de propionato (15, 39). La suplementación con harina de vainas de *Samanea saman* (60g/kg) sola y con aceite de palma (20 g/kg) reduce el contenido de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) en el rumen de vacas lecheras, así como la población de metanógenos y protozoarios (40).

Estrategia de manejo nutricional para reducir las emisiones entéricas de CH₄

Consiste en elaborar dietas con materias primas que contengan carbohidratos —por ejemplo, el maíz, porque contiene almidón— que durante la degradación y fermentación ruminal favorezcan la producción de ácido propiónico acético y disminuyan el pH, lo cual reduce la capacidad de las metanogénicas para utilizar el hidrógeno (23, 41). Las vacas

lecheras que son alimentadas con 100 % de ensilado de maíz producen 22.0 g de CH₄ / kg de cms, cantidad que es menor a los 24.6 g de CH₄ /kg de cms que producen vacas alimentadas con 100 % ensilado de pasto (42). Al incluir trigo en la dieta para las vacas lecheras se reduce la producción de CH₄ entérico (14.3 g/kg de cms; P< 0.05) en comparación con dietas que contienen maíz (20.3 g/kg de cms), cebada rolada y cebada rolada dos veces (22.9 g/kg de cms y 23.4 g/kg de cms, respectivamente (23). Las estrategias nutricionales tienen un efecto constante (diario) en la reducción de las emisiones de CH₄ de la ganadería (43).

Métodos de manipulación de la población microbiana para reducir emisiones de CH₄

Los métodos de desfaunación disminuyen las emisiones entéricas de CH₄ que se producen por la interacción microbiana interespecies, en la cual protozoarios ciliados del rumen y arqueobacterias metanogénicas transfieren el hidrógeno y forman CH₄ (12). La inclusión in vitro de 50 % de goma con fosfolípidos (gf) de la palma africana, reduce la concentración de arqueobacterias metanogénicas (3.3 x 10⁴/ml) y favorece la proliferación bacteriana de los géneros: *Lactobacillus sp.*, *Megasphaera sp.* y *Veillonella sp.* asociadas a la producción de bactericinas y procesos homofermentativos, al consumo de ácido láctico, la utilización y producción de ácidos grasos (butírico y propiónico), respectivamente (33). Los aceites esenciales (ae) de orégano y ca-

nela reducen la población de bacterias ruminales (8.78 x 10¹⁰/ml; P < 0.001) (44). La combinación de aceites esenciales de hojas de canela, orégano y romero reducen la población de arqueobacterias metanogénicas (7.47 x 10¹⁰/mL; P < 0.05) (2). En general, los efectos antimicrobianos de los aceites esenciales están relacionados con los monoterpenos oxigenados —como por ejemplo, el carvacrol— y con compuestos fenólicos como el cinamaldehído (45). Debido al potencial in vitro de los ae para mitigar las emisiones de CH₄ (44), también pueden ser una alternativa in vivo efectiva y constante, que debe considerar y evaluar los posibles efectos en la fermentación ruminal y las variables productivas. El uso de 26 g de ácido tánico /kg ms (P< 0.05) disminuye la población de protozoarios ruminales totales, las arqueobacterias metanogénicas y *Ruminococcus albus* (35). El destilado de aceite de coco, con una dosis de 4.5 (P< 0.05) defauna en un 82 % y un 84 % la población de entodinomorfidos, reduce en un 18 % su producción (18.46 g CH₄/ kg ms; P< 0.01 (11). Los protozoarios ruminales que albergan las arqueobacterias metanogénicas disminuyen con niveles de 1 mg/ml de saponina (38). Las saponinas interactúan con el colesterol presente en la membrana celular de los protozoarios y hongos ruminales (dominios colesterol-saponinas), lo que ocasiona su lisis y finalmente, la muerte (39). El efecto de la saponina depende de su estructura química, masa molecular y concentraciones en la dieta, mediados en el rumen por la acción microbiana (46). A partir de 1.2 % de ms de

extracto crudo de saponinas en bajas concentraciones, estimulan las bacterias celulolíticas (29). La población de *F. succinogenes* incrementa cuando es suplementada con las vainas de *Samanea saman* (60 g/kg) (47). En condiciones in vitro la fermentación de vainas de leguminosas mantiene una población de bacterias ruminales totales en *S. saman* (1.69×10^9 /ml) y en *E. cyclocarpum* (1.67×10^9 /ml), este valor cambia con *L. leucocephala* (0.89×10^9 /mL; (48). Tres horas después del consumo de vainas de *E. cyclocarpum* (0.15 kg ms) se reduce la población de protozoarios entodinomorfidos ruminales (49). La presencia de taninos en la dieta disminuyen la digestión de la fibra, ya que forma complejos con la lignocelulosa y esto evita la acción enzimática de microorganismo celulolíticos y fibrolíticos (31). La cepa DSM 1093 de *Methanobrevibacter ruminantium* expuesta a una concentración de 0.25 mg l⁻¹ de flavonoides de *L. pedunculatus* disminuye su crecimiento en un 28 % y su producción de CH₄, pero la cepa YLM-1 de esta misma arqueobacteria no se vio afectada por la misma concentración de flavonoides (50). Los ae reducen la metanogénesis suprimiendo la formación de hidrógeno por parte de los microorganismos (51).

Estrategias poco apropiadas para disminuir emisiones de metano entérico en rumiantes

El uso de ionóforos como la monensina, es una estrategia de control de las emisiones de CH₄ sustentada en la reducción de bacterias

Gram positivas del rumen (52), mismas que por su degradación y fermentación de sustratos producen hidrógeno y dióxido de carbono necesario para las arqueobacterias metanogénicas (15, 20). Dicho efecto no se mantiene, debido a la adaptación y dinámicas de crecimiento de la población de bacterias ruminales (53). La dosificación de 150 mg/dia-1 de monensina, no modifica las poblaciones de bacterias y arqueobacterias metanogénicas del rumen, por tanto, las emisiones entéricas de CH₄ no disminuyen (52). El desarrollo de vacunas contra las arqueobacterias metanogénicas ruminales como estrategia para disminuir las emisiones entéricas de CH₄ en rumiantes, es poco apropiada, debido a la alta cantidad de anticuerpos específicos para las proteínas integrales a la membrana citoplasmática de las arqueobacterias metanogénicas que deben ser estables en la dinámica ruminal (41). La vacuna para las arqueobacterias metanogénicas contiene anticuerpos con dominios extracelulares recombinantes de GT2, de la cepa *Methanobrevibacter ruminantium* M1 y la emulsión Montanide ISA61 con inmunomodulador monofosforil lípido A, que estimula la actividad de las inmunoglobulinas como la IgA, presente en este órgano en saliva y rumen, la cantidad de anticuerpos específicos de GT2 son bajos (19). En rumiantes alimentados con raciones que contienen forraje y grano (50:50) de 21.5 g de nitrato de calcio/kg ms y 53 g de aceite (colza) / kg ms reducen las emisiones entéricas de CH₄. Sin embargo, al aumentar la cantidad de granos en la dieta y al usar los dos compuestos mencionados,

no se presenta el mismo efecto (54). En dietas con forraje, la adición de nitrato de calcio favorece la proliferación de *Villanilla parvula* y *Wolinella succinogenes*, bacterias ruminales que tienen la capacidad de reducir el nitrato y transformarlo a nitrito, reacción que consume hidrógeno y limita la formación de CH₄ (54). Cuando la dieta es alta en granos proliferan bacterias amilolíticas como *Selenomonas ruminantium*, la cual no reduce el nitrato (54). A pesar de que la inclusión de lípidos en la dieta modifica la microbiología ruminal (55), puede afectar la adhesión y degradación microbiana de los nutrientes de la dieta —como por ejemplo, los carbohidratos y las proteínas (56)—, por tanto disminuye el cms y la fermentación, de la cual se obtiene agcc, amonio y proteína microbiana necesarias para cubrir los requerimientos nutricionales del rumiante (57). La dosificación intravenosa de una emulsión de triglicéridos de cadena larga disminuye el cms, induce la producción de serotonina y aumenta el tiempo de retención del alimento en el rumen, lo que favorece la producción de agcc y disminuye la formación de CH₄ (58). Aunque el efecto en la reducción de CH₄ puede ser constante, se puede considerar como inapropiada la técnica, por no ser práctica y aplicable en las condiciones productivas.

Técnicas para la estimación de las emisiones entéricas de metano en rumiantes

La técnica con hexafluoruro de azufre (SF₆) se utiliza en rumiantes en pastoreo sin alterar su comportamiento natural, aunque los

datos pueden presentar variaciones en las emisiones entéricas de CH₄ en comparación con el método cámara de respiración (14). El método es práctico y no tan costoso como la técnica de cámara respiratoria (59). La variabilidad en las mediciones de CH₄ puede ser reducida, mejorando la resistencia del tubo de permeación, así como la tasa de liberación de SF₆ (60). En terneras, la medición de las emisiones entéricas de CH₄, usando la técnica de SF₆, no presenta diferencias con los datos registrados en la cámara de respiración (61). Existe una alta correlación entre la medición de emisiones entéricas de CH₄, en vacas lecheras, usando la técnica de SF₆ (310 g/d) y de cámara respiratoria (367 g/d) (14). La cantidad de SF₆ liberado es constante e independiente de la tasa de emisiones de CH₄ en vacas lecheras, este valor cambia con el consumo de alimento y genera medidas constantes durante el día (62). Al realizar 20 mediciones de las emisiones entéricas de CH₄ consecutivas, durante el día en vacas secas, con la técnica SF₆, el valor promedio de emisiones entéricas de CH₄ fue de 23.6 + 3.9 g/kg de cms con un coeficiente de correlación R de 0.70 (63). El SF₆ en su forma volátil es un gas de efecto invernadero, con un potencial de calentamiento global de 23 900 veces más que el dióxido de carbono y puede permanecer en la atmósfera por 3200 años (64). La técnica es invasiva y requiere de una carga continua del bolo, que contiene el SF₆, lo cual, interfiere con el bienestar del rumiante (59). Para la permeación de cada tubo se

requiere de 2.5 g de SF₆ por vaca y 1.0 g de SF₆ por borrego, que al ser excretado, puede ser un factor de contaminación por parte de la ganadería (64). A largo plazo, aumenta la inestabilidad de la cantidad de liberación de los tubos que contienen el SF₆ (59). Una alta permeación de SF₆ en los tubos puede causar una sobrestimación en la producción entérica de CH₄ (63), por tanto, es importante validar y estandarizar la cantidad que se libera en condiciones controladas de laboratorio (60). Considerando la cinética de Michaelis-Menten puede describirse con más exactitud la liberación de SF₆ y obtener un patrón de permeación constante, lo cual permite que la técnica dure hasta 800 días después la inserción de los tubos en el rumen (23). La variación en la medición de CH₄ es intrínseca a la técnica SF₆, ya que influye la concentración de este gas en el aire de la atmósfera del medio, que influye sobre las muestras recolectadas de nariz y boca (60). La técnica del detector láser mide la concentración de CH₄, exhalado al aire, que se encuentra presente cerca a la nariz y boca del rumiante en condiciones ambientales (14, 65, 66). La medición está relacionada con el ciclo respiratorio de los rumiantes, puede ser medida cada minuto o cada dos minutos (14, 65). La mayor cantidad de emisiones entéricas de CH₄ se producen durante las horas de la mañana, después de la alimentación (14). La técnica considera: los hábitos de consumo del alimento, el tipo de alimento, el periodo de rumia y el número de mediciones con el láser a lo largo del

día (14). Para las vacas lecheras, la sensibilidad y especificidad del detector láser de CH₄ fue de hasta el 96.5 %, con un valor promedio de producción de CH₄ de 395.8 partes por millón [ppm] similar al valor, 353.6 ppm de la cámara calorimétrica de respiración. La detección láser de CH₄ permite medir emisiones entéricas en rumiantes, en periodos cortos de tiempo y puede ser susceptible a las condiciones ambientales, por tanto puede complementarse con técnicas micrometeorológicas con el fin de obtener datos precisos en condiciones naturales (66, 67).

Conclusiones

Debido al aumento de la demanda de la población humana creciente, por los alimentos que se obtienen de la ganadería, es necesario encontrar estrategias de mitigación de las emisiones entéricas de CH₄ en rumiantes, las cuales deben conocer las interacciones entre los microorganismos ruminales en donde se presenta un flujo constante de hidrógeno, sustrato importante para la formación de CH₄. Estas estrategias deben aplicarse de forma conjunta con la adición de compuestos químicos y también el manejo nutricional, todo adaptado y aplicado a las condiciones propias de cada producción. Evaluar métodos de medición de las emisiones entéricas de CH₄ es importante para obtener valores cada vez más precisos y avanzar en estrategia eficientes que permitan hacer más sostenibles los sistemas de producción.

Referencias

- [1] Watts N, Amann M, Arnell N, Ayeb-Karlsson S, Beagley J, Belesova K, et al. The 2020 report of The Lancet Countdown on health and climate change: responding to converging crises. *The Lancet*. 2021 en.;397(10269):129-70.
- [2] Wang K, Xiong B, Zhao X. Could propionate formation be used to reduce enteric methane emission in ruminants? *Sci Total Environ*. 2022 sept.;158867.
- [3] Ugbogu EA, Elghandour MMMY, Ikpeazu VO, Buendía GR, Molina OM, Arunsi UO, et al. The potential impacts of dietary plant natural products on the sustainable mitigation of methane emission from livestock farming. *J Clean Prod*. 2019 mzo.;213:915-25.
- [4] Janssen PH. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Anim Feed Sci Technol*. 2010 ag.;160(1-2):1-22.
- [5] Tóthová T, Píknová M, Kišidayová S, Javorský P, Pristaš P. Distinctive archaeobacterial species associated with anaerobic rumen protozoan *Entodinium caudatum*. *Folia Microbiol (Praha)*. 2008 my.;53(3):259-62.
- [6] Patra AK, Saxena J. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*. 2010 ag.;71(11-12):1198-222.
- [7] Park T, Yu Z. Do Ruminant Ciliates Select Their Preys and Prokaryotic Symbionts? *Front Microbiol*. 2018 jul. 31;9:1710.
- [8] Li Z, Deng Q, Liu Y, Yan T, Li F, Cao Y, et al. Dynamics of methanogenesis, ruminal fermentation and fiber digestibility in ruminants following elimination of protozoa: a meta-analysis. *J Anim Sci Biotechnol*. 2018 dic. 18;9(1):89.
- [9] Hille KT, Hetz SK, Rosendahl J, Braun HS, Pieper R, Stumpff F. Determination of Henry's constant, the dissociation constant, and the buffer capacity of the bicarbonate system in ruminal fluid. *J Dairy Sci*. 2016 en.;99(1):369-85.
- [10] McAllister TA, Newbold CJ. Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. *Aust J Exp Agric*. 2008;48(2):7.
- [11] Nguyen SH, Hegarty RS. Effects of defaunation and dietary coconut oil distillate on fermentation, digesta kinetics and methane production of Brahman heifers. *J Anim Physiol Anim Nutr*. 2017 oct.;101(5):984-93.
- [12] Nguyen SH, Nguyen HDT, Hegarty RS. Defaunation and its impacts on ruminal fermentation, enteric methane production and animal productivity. *LRRD*. 2020;32(4):10.
- [13] Nguyen SH, Bremner G, Cameron M, Hegarty RS. Methane emissions, ruminal characteristics and nitrogen utilisation changes after refaunation of protozoa-free sheep. *Small Rumin Res*. 2016 nov.;144:48-55.
- [14] Patra AK. Recent Advances in Measurement and Dietary Mitigation of Enteric Methane Emissions in Ruminants. *Front Vet Sci* [Internet]. 2016 my. 20 [citado 2022 sept. 19];3. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fvets.2016.00039/abstract>
- [15] Leahy SC, Janssen PH, Attwood GT, Mackie RI, McAllister TA, Kelly WJ. Electron flow: key to mitigating ruminant methanogenesis. *Trends Microbiol*. 2022 mzo.;30(3):209-12.
- [16] Almeida AK, Hegarty RS, Cowie A. Meta-analysis quantifying the potential of dietary additives and rumen modifiers for methane mitigation in ruminant production systems. *Anim Nutr*. 2021dic.;7(4):1219-30.
- [17] Buddle BM, Denis M, Attwood GT, Altermann E, Janssen PH, Ronimus RS, et al. Strategies to reduce methane emissions from farmed ruminants grazing on pasture. *Vet J*. 2011 abr.;188(1):11-7.
- [18] Bes A, Nozière P, Renand G, Rochette Y, Guarnido-Lopez P, Cantalapiedra-Hijar G, et al. Individual methane emissions (and other gas flows) are repeatable and their relationships with feed efficiency are similar across two contrasting diets in growing bulls. *Animal*. 2022 ag.;16(8):100583. doi: <https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100583>
- [19] Subharat S, Shu D, Zheng T, Buddle BM, Janssen PH, Luo D, et al. Vaccination of cattle with a methanogen

protein produces specific antibodies in the saliva which are stable in the rumen. *Vet Immunol Immunopathol*. 2015 abr.;164(3-4):201-7.

[20] Pereira AM, de Lurdes Nunes Enes Dapkevicius M, Borba AES. Alternative pathways for hydrogen sink originated from the ruminal fermentation of carbohydrates: Which microorganisms are involved in lowering methane emission? *Anim Microbiome*. 2022 dic.;4(1):5.

[21] Lopez S, McIntosh FM, Wallace RJ, Newbold CJ. Effect of adding acetogenic bacteria on methane production by mixed rumen microorganisms. *Anim Feed Sci Technol*. 1999 mzo.;78(1-2):1-9.

[22] Haque MN. Dietary manipulation: a sustainable way to mitigate methane emissions from ruminants. *J Anim Sci Technol*. 2018 dic.;60(1):15.

[23] Moate PJ, Williams SRO, Jacobs JL, Hannah MC, Beauchemin KA, Eckard RJ, et al. Wheat is more potent than corn or barley for dietary mitigation of enteric methane emissions from dairy cows. *J Dairy Sci*. 2017 sept.;100(9):7139-53.

[24] Zhang RY, Jin W, Feng PF, Liu JH, Mao SY. High-grain diet feeding altered the composition and functions of the rumen bacterial community and caused the damage to the laminae tissues of goats. *Animal*. 2018;12(12):2511-20.

[25] Plaizier JC, Li S, Danscher AM, Derakshani H, Andersen PH, Khafipour E. Changes in Microbiota in Rumen Digesta and Feces Due to a Grain-Based Subacute Ruminal Acidosis (SARA) Challenge. *Microb Ecol*. 2017 ag.;74(2):485-95.

[26] Jordan E, Lovett DK, Monahan FJ, Callan J, Flynn B, O'Mara FP. Effect of refined coconut oil or copra meal on methane output and on intake and performance of beef heifers. *J Anim Sci*. 2006 en. 1;84(1):162-70.

[27] Vasta V, Daghighi M, Cappucci A, Buccioni A, Serra A, Viti C, et al. Invited review: Plant polyphenols and rumen microbiota responsible for fatty acid biohydrogenation, fiber digestion, and methane emission: Experimental evidence and methodological approaches. *J Dairy Sci*. 2019 my.;102(5):3781-804.

[28] Lakhani N, Kamra DN, Lakhani P, Kala A. Effect of Rumen Modifier on Methanogenesis and Feed Digestibility under in Vitro Conditions. *Indian J Anim Nutr*. 2019;36(1):99.

[29] Galindo J, González N, Abdalla AL, Alberto M, Lucas RC, Dos KC, et al. Effect of a raw saponin extract on ruminal microbial population and in vitro methane production with star grass (*Cynodon nlemfuensis*) substrate. Efecto de un extracto crudo de saponinas en la población microbiana ruminal y en la producción de metano in vitro con sustrato de pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*). *Cuban J Agric Sci*. 2016;50(1):13.

[30] Ku-Vera JC, Castelán-Ortega OA, Galindo-Maldonado FA, Arango J, Chirinda N, Jiménez-Ocampo R, et al. Review: Strategies for enteric methane mitigation in cattle fed tropical forages. *Animal*. 2020;14:s453-63.

[31] Ku-Vera JC, Jiménez-Ocampo R, Valencia-Salazar SS, Montoya-Flores MD, Molina-Botero IC, Arango J, et al. Role of Secondary Plant Metabolites on Enteric Methane Mitigation in Ruminants. *Front Vet Sci*. 2020 ag. 27;7:584.

[32] Zhang Z, Wei W, Yang S, Huang Z, Li C, Yu X, et al. Regulation of Dietary Protein Solubility Improves Ruminant Nitrogen Metabolism In Vitro: Role of Bacteria-Protozoa Interactions. *Nutrients*. 2022 jul. 20;14(14):2972.

[33] Mustapha NA, Sharuddin SS, Mohd Zainudin MH, Ramli N, Shirai Y, Maeda T. Inhibition of methane production by the palm oil industrial waste phospholine gum in a mimic enteric fermentation. *J Clean Prod*. 2017 nov.;165:621-9.

[34] Ku-Vera JC, Jiménez-Ocampo R, Valencia-Salazar SS, Montoya-Flores MD, Molina-Botero IC, Arango J, et al. Role of Secondary Plant Metabolites on Enteric Methane Mitigation in Ruminants. *Front Vet Sci*. 2020 ag. 27;7:584.

[35] Yang K, Wei C, Zhao GY, Xu ZW, Lin SX. Effects of dietary supplementing tannic acid in the ration of beef cattle on rumen fermentation, methane emission, microbial flora and nutrient digestibility. *J Anim Physiol Anim Nutr*. 2017 abr.;101(2):302-10.

- [36] Jafari S, Ebrahimi M, Goh YM, Rajion MA, Jahromi MF, Al-Jumaili WS. Manipulation of Rumen Fermentation and Methane Gas Production by Plant Secondary Metabolites (Saponin, Tannin and Essential Oil) – A Review of Ten-Year Studies. *Ann Anim Sci.* 2019 en. 1;19(1):3-29.
- [37] Joch M, Mrázek J, Skřivanová E, Čermák L, Marounek M. Effects of pure plant secondary metabolites on methane production, rumen fermentation and rumen bacteria populations in vitro. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2018 ag.;102(4):869-81.
- [38] Jayanegara A, Yogianto Y, Wina E, Sudarman A, Kondo M, Obitsu T, et al. Combination Effects of Plant Extracts Rich in Tannins and Saponins as Feed Additives for Mitigating in Vitro Ruminal Methane and Ammonia Formation. *Animals.* 2020 ag.30;10(9):1531.
- [39] Liu Y, Ma T, Chen D, Zhang N, Si B, Deng K, et al. Effects of Tea Saponin Supplementation on Nutrient Digestibility, Methanogenesis, and Ruminal Microbial Flora in Dorper Crossbred Ewe. *Animals.* 2019 en.;9(1):29.
- [40] Anantasook N, Wanapat M, Cherdthong A, Gunun P. Effect of tannins and saponins in Samanea saman on rumen environment, milk yield and milk composition in lactating dairy cows. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2015 abr.;99(2):335-44.
- [41] Arndt C, Hristov AN, Price WJ, McClelland SC, Pe-laer AM, Cueva SF, et al. Strategies to mitigate enteric methane emissions by ruminants - a way to approach the 2.0°C target. *agRxiv.* 2021 en.;2021:20210085288.
- [42] Van Gastelen S, Antunes-Fernandes EC, Hettinga KA, Klop G, Alferink SJJ, Hendriks WH, et al. Enteric methane production, rumen volatile fatty acid concentrations, and milk fatty acid composition in lactating Holstein-Friesian cows fed grass silage- or corn silage-based diets. *J Dairy Sci.* 2015 mzo.;98(3):1915-27.
- [43] Alvarez-Hess PS, Williams SRO, Jacobs JL, Hannah MC, Beauchemin KA, Eckard RJ, et al. Effect of dietary fat supplementation on methane emissions from dairy cows fed wheat or corn. *J Dairy Sci.* 2019 mzo.;102(3):2714-23.
- [44] Cobellis G, Trabalza-Marinucci M, Marcotullio MC, Yu Z. Evaluation of different essential oils in modulating methane and ammonia production, rumen fermentation, and rumen bacteria in vitro. *Anim Feed Sci Technol.* 2016 my.;215:25-36.
- [45] Kholif AE, Olafadehan OA. Essential oils and phyto-genic feed additives in ruminant diet: chemistry, ruminal microbiota and fermentation, feed utilization and productive performance. *Phytochem Rev [Internet].* 2021 febr. 11 [citado 2021 abr. 12]; Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09739-3>
- [46] Sirohi SK, Goel N, Singh N. Utilization of Saponins, a Plant Secondary Metabolite in Enteric Methane Mitigation and Rumen Modulation. *Annu Res Rev Biol.* 2014;1-19.
- [47] Valencia Salazar SS, Piñeiro Vázquez AT, Molina Botero IC, Lazos Balbuena FJ, Uuh Narváez JJ, Segura Campos MR, et al. Potential of Samanea saman pod meal for enteric methane mitigation in crossbred heifers fed low-quality tropical grass. *Agric For Meteorol.* 2018 ag.;258:108-16.
- [48] Hernández-Morales J, Sánchez-Santillán P, Torres-Salado N, Herrera-Pérez J, Rojas-García AR, Reyes-Vázquez I, et al. Composición química y degradaciones in vitro de vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México. *Rev Mex Cienc Pecu.* 2017 dic.26;9(1):105.
- [49] Albores-Moreno S, Alayón-Gamboa JA, Ayala-Burgos AJ, Solorio-Sánchez FJ, Aguilar-Pérez CF, Olivera-Castillo L, et al. Effects of feeding ground pods of *Enterolobium cyclocarpum* Jacq. Griseb on dry matter intake, rumen fermentation, and enteric methane production by Pelibuey sheep fed tropical grass. *Trop Anim Health Prod.* 2017 abr.;49(4):857-66.
- [50] Tavendale MH, Meagher LP, Pacheco D, Walker N, Attwood GT, Sivakumaran S. Methane production from in vitro rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Anim Feed Sci Technol.* 2005 sept.;123-124:403-19.
- [51] Zhou R, Wu J, Lang X, Liu L, Casper DP, Wang C, et al. Effects of oregano essential oil on in vitro ruminal fermentation, methane production, and ruminal microbial community. *J Dairy Sci.* 2020 mzo.;103(3):2303-14.

- [52] Melchior EA, Hales KE, Lindholm-Perry AK, Freetly HC, Wells JE, Hemphill CN, et al. The effects of feeding monensin on rumen microbial communities and methanogenesis in bred heifers fed in a drylot. *Livest Sci*. 2018 jun.;212:131-6.
- [53] Lengowski MB, Zuber KHR, Witzig M, Möhring J, Boguhn J, Rodehutsord M. Changes in Rumen Microbial Community Composition during Adaption to an In Vitro System and the Impact of Different Forages. *Virolle MJ, editor. PLOS ONE*. 2016 febr.29;11(2):e0150115.
- [54] Troy SM, Duthie CA, Hyslop JJ, Roehe R, Ross DW, Wallace RJ, et al. Effectiveness of nitrate addition and increased oil content as methane mitigation strategies for beef cattle fed two contrasting basal diets1. *J Anim Sci*. 2015 abr.1;93(4):1815-23.
- [55] Savoini G, Omodei Zorini F, Farina G, Agazzi A, Cattaneo D, Invernizzi G. Effects of Fat Supplementation in Dairy Goats on Lipid Metabolism and Health Status. *Animals*. 2019 nov.4;9(11):917.
- [56] Joy F, Johnson JA, Górka P, McKinnon JJ, Hendrick S, Penner GB. Effect of dietary lipid inclusion from by-product-based pellets on dry matter intake, ruminal fermentation, and nutrient digestion in finishing beef heifers. *Miglior F, editor. Can J Anim Sci*. 2021 sept.1;101(3):481-92.
- [57] Ghorbani H, Kazemi-Bonchenari M, HosseinYazdi M, Mahjoubi E. Effects of various fat delivery methods in starter diet on growth performance, nutrients digestibility and blood metabolites of Holstein dairy calves. *Anim Feed Sci Technol*. 2020 abr.;262:114429.
- [58] Lamp O, Reyer H, Otten W, Nürnberg G, Derno M, Wimmers K, et al. Intravenous lipid infusion affects dry matter intake, methane yield, and rumen bacteria structure in late-lactating Holstein cows. *J Dairy Sci*. 2018 jul.;101(7):6032-46.
- [59] Doreau M, Arbre M, Rochette Y, Lascoux C, Eugène M, Martin C. Comparison of 3 methods for estimating enteric methane and carbon dioxide emission in nonlactating cows. *J Anim Sci*. 2018 abr. 14;96(4):1559-69.
- [60] Hristov AN, Melgar A, Wasson D, Arndt C. Symposium review: Effective nutritional strategies to mitigate enteric methane in dairy cattle. *J Dairy Sci*. 2022 oct.;105(10):8543-57.
- [61] Jonker A, Molano G, Antwi C, Waghorn GC. Enteric methane and carbon dioxide emissions measured using respiration chambers, the sulfur hexafluoride tracer technique, and a GreenFeed head-chamber system from beef heifers fed alfalfa silage at three allowances and four feeding frequencies1-3. *J Anim Sci*. 2016 oct. 1;94(10):4326-37.
- [62] Deighton MH, Williams SRO, Hannah MC, Eckard RJ, Boland TM, Wales WJ, et al. A modified sulphur hexafluoride tracer technique enables accurate determination of enteric methane emissions from ruminants. *Anim Feed Sci Technol*. 2014 nov.;197:47-63.
- [63] Arbre M, Rochette Y, Guyader J, Lascoux C, Gómez LM, Eugène M, et al. Repeatability of enteric methane determinations from cattle using either the SF6 tracer technique or the GreenFeed system. *Anim Prod Sci*. 2016;56(3):238.
- [64] Della Rosa MM, Jonker A, Waghorn GC. A review of technical variations and protocols used to measure methane emissions from ruminants using respiration chambers, SF6 tracer technique and GreenFeed, to facilitate global integration of published data. *Anim Feed Sci Technol*. 2021 sept.;279:115018.
- [65] Scafutto RDM, de Souza Filho CR, Riley DN, de Oliveira WJ. Evaluation of thermal infrared hyperspectral imagery for the detection of onshore methane plumes: Significance for hydrocarbon exploration and monitoring. *Int J Appl Earth Obs Geoinformation*. 2018 febr.;64:311-25.
- [66] Roessler R, Chefor F, Schlecht E. Using a portable laser methane detector in goats to assess diurnal, diet- and position-dependent variations in enteric methane emissions. *Comput Electron Agric*. 2018 jul.;150:110-7.
- [67] Ricci P, Chagunda MGG, Rooke J, M. Houdijk JG, Duthie CA, Hyslop J, et al. Evaluation of the laser methane detector to estimate methane emissions from ewes and steers1. *J Anim Sci*. 2014 nov. 1;92(11):5239-50.