



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY

# **Emisiones de metano de novillos en fase de terminación alimentados bajo dietas con diferentes niveles de fibra**

Daniel Santander Godoy

Maestría en Ciencias Agrarias  
opción Ciencia Animal

julio 2023

**Emisiones de metano de novillos en fase  
de terminación alimentados bajo dietas  
con diferentes niveles de fibra**

Daniel Santander Godoy

Maestría en Ciencias Agrarias  
opción Ciencia Animal

julio 2023

Tesis aprobada por el tribunal integrado por (título nombre), (título nombre) y (título nombre) el (día) de (mes) de (año). Autor: Daniel Santander Godoy. Directora: Ing. Agr. PhD. Verónica Ciganda. Codirectora: DMV. PhD. Georget Banhero.

## **AGRADECIMIENTOS**

Esta maestría fue sin duda uno de los retos más importantes de mi vida académica. Esta no hubiese sido posible terminar sin el apoyo de todas las personas que hicieron parte de este proceso. Primeramente, quiero agradecer a la directora de esta tesis, Verónica Ciganda, que junto a INIA me dieron la oportunidad de estar en este país y ser parte de este proceso. Además, no puedo dejar de destacar su gran apoyo y dedicación y el respeto a mis sugerencias e ideas, además de agradecer por la dirección y el rigor que ha facilitado mi formación. Gracias por la confianza ofrecida, Verónica. Tengo el deber de destacar al Ing. Agr. Juan Clariget como una de las personas más importantes en esta tesis, quien desde el primer momento presentó plena disponibilidad y amabilidad en resolver cada duda que se me presentó. Tuve la fortuna de trabajar en conjunto y debo decir que fue un placer. Muchas gracias, Juan.

No puedo seguir sin agradecer la colaboración de mi cotutora, Georgget, quien con mucha dedicación pudo compartir su vasta experiencia y ayuda en cada etapa en la que pudo participar. Muchas gracias, Georgget.

Sin duda en estos agradecimientos se me escapan personas, pero no puedo olvidarme de mis padres, hermanos, amigos y novia. Que cada uno desde su lugar pudieran quizás dar ese consejo y palabra de apoyo que hicieron sortear esos momentos difíciles. Muchas gracias a todos.

## RESUMEN

El cambio climático es una problemática mundial, en el cual el metano proveniente de la ganadería es importante por su contribución como gas de efecto invernadero. Esta tesis busca colaborar en el entendimiento de las emisiones de metano entérico en animales alimentados con dietas forrajeras con diferentes niveles de fibra. Para ello, esta tesis se dividió en dos partes. En la primera, se realizó un experimento utilizando 30 novillos para carne, alimentados en comederos automatizados, donde se cuantificó las emisiones originadas de la alimentación utilizando la técnica SF<sub>6</sub>. Los animales se dividieron en dos grupos con dos dietas forrajeras de distinta calidad y contenido de fibra. En la segunda parte, se evaluó el desempeño (exactitud y precisión) de las predicciones de seis ecuaciones de estimación de emisiones de CH<sub>4</sub> y se compararon con observaciones de 29 estudios realizados con dietas forrajeras. En lo experimental, las emisiones absolutas de metano entre ambas dietas no fueron diferentes ( $p > 0,05$ ). Sin embargo, las intensidades de emisión por kg de materia seca consumida y por kg ganado de peso ( $\text{g CH}_4/\text{DMI}$  y  $\text{g CH}_4/\text{ADG}$ ) fueron inferiores en los animales consumiendo la dieta de baja fibra ( $p < 0,05$ ). Por otro lado, el modelo que presentó el mejor desempeño fue el modelo del nivel 2 de IPCC 2006 ( $r^2 = 0,7$ ,  $\text{RMSE} = 74 \text{ g}$ ). La utilización de una dieta forrajera de mejor calidad, con menor contenido de fibra, disminuyó las intensidades de emisión de metano. El uso de un modelo de predicción ajustado para dietas forrajeras permitirá predecir mejor las emisiones originadas de animales alimentados bajo este tipo de dietas.

Palabras clave: emisión, dietas forrajeras, predicción, intensidad

## SUMMARY

Climate change is a global issue, in which methane from livestock is important for its contribution as a greenhouse gas. This thesis seeks to contribute to the understanding of enteric methane emissions in animals fed forage diets with different levels of fiber. For this purpose, this thesis was divided into two parts. In the first one, an experiment was conducted using 30 beef steers fed in automated feedlots, where emissions from feeding were quantified using the SF<sub>6</sub> technique. The animals were divided into two groups with two forage diets of different quality and fiber content. In the second part, the performance (accuracy and precision) of the predictions of six CH<sub>4</sub> emission estimation equations were evaluated and compared with observations from 29 studies conducted with forage diets. At the experimental level, absolute methane emissions between the two diets were not different ( $p > 0.05$ ). However, emission intensities per kg dry matter consumed and per kg weight gained (g CH<sub>4</sub>/DMI and g CH<sub>4</sub>/ADG) were lower in animals consuming the low fiber diet ( $p < 0.05$ ). On the other hand, the model that presented the best performance was the IPCC 2006 level 2 model ( $r^2 = 0.7$ , RMSE = 74 g). The use of a better quality forage diet, with lower fiber content, decreased methane emission intensities. The use of a prediction model adjusted for forage diets will allow better prediction of emissions from animals fed these types of diets.

Keywords: emission, forage diets, prediction, intensity

# TABLA DE CONTENIDO

página

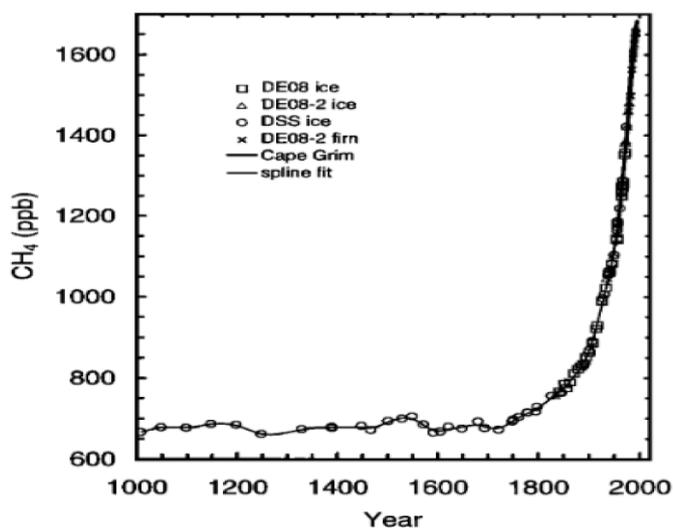
<b><u>PÁGINA DE APROBACIÓN</u></b> .....	<b>II</b>
<b><u>AGRADECIMIENTOS</u></b> .....	<b>III</b>
<b><u>RESUMEN</u></b> .....	<b>IV</b>
<b><u>SUMMARY</u></b> .....	<b>V</b>
<b><u>1.INTRODUCCIÓN</u></b> .....	<b>1</b>
<b><u>1.1.CALENTAMIENTO GLOBAL: PROBLEMÁTICA Y COMPROMISO INTERNACIONAL</u></b> .....	<b>1</b>
<b><u>1.2.GASES DE EFECTO INVERNADERO</u></b> .....	<b>2</b>
<b><u>1.3.MÉTRICAS DE CALENTAMIENTO GLOBAL</u></b> .....	<b>3</b>
<b><u>1.4.ACTIVIDAD ECONÓMICA: MERCADO E IMPACTO AMBIENTAL..</u></b>	<b>4</b>
<b><u>1.5.INVENTARIOS GEI EN URUGUAY</u></b> .....	<b>5</b>
<b><u>1.6.GANADERÍA Y METANO</u></b> .....	<b>7</b>
1.6.1. Producción de metano entérico.....	7
1.6.2. Dieta y producción de CH <sub>4</sub> .....	10
1.6.3. Medición de consumo y emisiones de CH <sub>4</sub> .....	11
1.6.4. Intensidad de emisión de CH <sub>4</sub> .....	11
<b><u>1.7.MODELOS DE PREDICCIÓN DE EMISIONES</u></b> .....	<b>12</b>
<b><u>1.8.IMPLICANCIA DEL ESTUDIO</u></b> .....	<b>13</b>
<b><u>1.9.HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</u></b> .....	<b>14</b>
1.9.1. Hipótesis .....	14
1.9.2. Objetivo general .....	14
1.9.3. Objetivos específicos.....	14
<b><u>2.BEEF STEERS AND ENTERIC METHANE: REDUCING EMISSIONS BY MANAGING FORAGE DIET FIBER CONTENT</u></b> .....	<b>15</b>
<b><u>3.DISCUSIÓN GENERAL</u></b> .....	<b>33</b>
<b><u>4.CONCLUSIÓN GENERAL</u></b> .....	<b>38</b>



# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. CALENTAMIENTO GLOBAL: PROBLEMÁTICA Y COMPROMISO INTERNACIONAL

El calentamiento global, intrínsecamente asociado a la ocurrencia del cambio climático, es un fenómeno provocado por el incremento en la concentración de gases de efecto invernadero (GEI) en la atmósfera, fundamentalmente generados por la actividad antropogénica. Desde la revolución industrial en el siglo XVIII, se ha producido un sensible incremento en la cantidad de GEI emitidos a la atmósfera (Figura 1, Etheridge et al., 1998). Además, otras actividades humanas como la deforestación han limitado la capacidad para secuestrar el CO<sub>2</sub>. En efecto, Jastrow et al. (1991) manifestaron que en los últimos 100 años la temperatura promedio global se incrementó en 0,5 °C y se espera que en los próximos 100 años se incremente a 2,5 °C. En el mismo sentido, Solomon et al. (2007), basados en diferentes estudios de simulación, sostiene que, antes de fin del siglo XXI, el aumento de temperatura del planeta tierra será de 2 a 6 °C mayor. Otros autores plantean que la permanencia de estos incrementos de temperatura tendría como consecuencia un aumento medio del nivel del mar de 17 a 26 cm de aquí a 2030 (Moss et al., 2000).



**Figura 1.** Emisiones de metano (CH<sub>4</sub>) durante los últimos 1000 años estimadas a partir de lo encontrado en tres núcleos de hielo de la Antártica. Extraído de Etheridge et al. (1998).

Por los motivos antes expuestos, el calentamiento global se ha convertido en una de las preocupaciones mundiales más importantes de la actualidad. El 12 diciembre de 2015, en la COP21 de París, las partes de la Convención Marco de las Naciones Unidas

sobre el Cambio Climático (CMNUCC), entre ellos Uruguay, alcanzaron un acuerdo histórico para combatir el cambio climático y, a su vez, acelerar e intensificar las acciones e inversiones necesarias para un futuro sostenible con bajas emisiones de carbono (UFCCC, 2020). Entre los objetivos que se trazaron, se destacan aquellos relacionados a: «cuantificar emisiones», «intensificar esfuerzos de mitigación» y «conservar y mejorar los sumideros y depósitos de GEI». Para lograr estos cometidos, distintos países se han dedicado a buscar y generar estrategias que se enmarquen en las actividades que mayormente estén implicadas en esta problemática, atendiendo a la particularidad de la matriz de los inventarios de GEI de cada país.

### 1.2. GASES DE EFECTO INVERNADERO

Los gases de efecto invernadero (GEI) son todos aquellos gases que poseen moléculas con dos o más átomos unidos y que, al absorber calor, permiten la vibración de la molécula, que posteriormente libera y transmite esta radiación a otra molécula vecina de similares características. Esto provoca un efecto de manutención del calor cerca de la superficie de la tierra, fenómeno conocido como «efecto invernadero» (Bonilla y Flores, 2012). Si bien esto podría verse como un fenómeno negativo, su ausencia traería como consecuencia grandes variaciones de temperatura en la superficie de la tierra, tan drásticas que impedirían al planeta tierra ser un lugar habitable (Moss et al., 2000). Sin embargo, el aumento sostenido de la temperatura ha provocado inestabilidades ambientales, que repercuten fuertemente en las actividades productivas (Giridhar y Samireddypalle, 2015).

Existe una gran variedad de GEI, y con diversos orígenes. Los principales son el vapor de agua (H<sub>2</sub>O), el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), el óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), el metano (CH<sub>4</sub>), el hidrofluorocarbono (HFC), el perfluorocarbono (PFC) y el hexafluoruro de azufre (SF<sub>6</sub>).

### 1.3. MÉTRICAS DE CALENTAMIENTO GLOBAL

Para evaluar y diferenciar la intensidad de los distintos GEI, es necesario estandarizarlos a una unidad en común. Existen dos métricas que han sido discutidas en el último tiempo (Wang et al., 2013) que, según las características de cada gas, atribuyen un índice mayor o menor (Tabla 1). Estas son las métricas GTP (potencial de cambio de temperatura global) y GWP (potencial de calentamiento global), por sus

siglas en inglés. La primera explica el cambio de la temperatura media global en la superficie de la tierra que provoca un determinado GEI respecto al CO<sub>2</sub>, mientras que la segunda corresponde a la medida relativa de cuánto calor puede ser atrapado por un GEI en un determinado período de tiempo en comparación con el CO<sub>2</sub>. Es de particular interés observar lo ocurrido con el gas metano (CH<sub>4</sub>), pues es uno de los principales gases emitidos por la ganadería, y del cual hay grandes diferencias entre ambas métricas. La más utilizada es la métrica GWP, que en definitiva, explica el potencial de los gases de producir calentamiento, y otorga al CO<sub>2</sub> un índice igual a 1, para luego desde aquí ir asignando los índices correspondientes y de esta manera calcular su equivalencia en dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>-eq). El metano, por otra parte, tiene una vida útil mucho más corta (vida media: 12 años; Wang et al., 2013) que el CO<sub>2</sub> en la atmósfera, lo que lo convierte en un atractivo objetivo de mejora del calentamiento global a corto plazo.

**Tabla 1.** Algunos GEI vistos desde las métricas GWP-100 años y GTP. Adaptado de Wang et al. (2013).

GEI	Tiempo de vida (años)	GWP <sup>1</sup>	GTP <sup>2</sup>
CH <sub>4</sub>	12	18	0.26
N <sub>2</sub> O	114	298	250
HFC-125	29	4713	1113
CF <sub>4</sub>	50000	7829	4288
C <sub>2</sub> F <sub>6</sub>	10000	17035	22468
SF <sub>6</sub>	3200	31298	40935

<sup>1</sup>Global Warning Potential. <sup>2</sup>Global Temperature Potential. CH<sub>4</sub>: Metano. N<sub>2</sub>O: Oxido nitroso. HFC<sup>-125</sup>: Pentafluoroetano. CF<sub>4</sub>: Tetrafluorometano. C<sub>2</sub>F<sub>6</sub>: Hexafluoroetano. SF<sub>6</sub>: Hexafluoruro de azufre.

#### 1.4. ACTIVIDAD ECONÓMICA: MERCADO E IMPACTO AMBIENTAL

La expansión de la ganadería es de preocupación mundial, pues contribuye al aumento de las concentraciones atmosféricas de gases de efecto invernadero (GEI) y, en consecuencia, influye sobre el cambio climático. En el ámbito mundial, se estima que la ganadería genera alrededor de 7,1 gigatoneladas de CO<sub>2</sub>-eq por año, lo que representa el 14,5 % de todas las emisiones antropogénicas, donde el ganado vacuno de carne es el principal generador de emisiones del sector ganadero, con alrededor de 2,9 gigatoneladas de CO<sub>2</sub>-eq (Gerber et al., 2013).

La producción y la demanda mundial de carne ha venido creciendo en los últimos años (OPYPA, 2022). En el año 2022, la producción creció un 1,7 % y llegó a los 59,37 millones de toneladas (carcasa equivalente), siendo Estados Unidos y Brasil los principales exponentes. Lo mismo ocurre con las exportaciones que alcanzaron 12,28 millones de toneladas, ubicándose el Uruguay en el 9.º lugar con el 4,6 % del total exportado (0,57 millones de toneladas). Si bien, la participación del Uruguay en el mundo no es muy grande (11,5 millones de cabezas de ganado, 1,1 % del stock mundial), sin lugar a duda la producción de carne es una de las actividades más importantes para la economía local. Esto se ve reflejado en lo informado en el anuario 2022 de la Oficina de Programación y política Agropecuaria (OPYPA) que proyectó para el año 2023 exportaciones de carne vacuna con valores de 2400 millones de dólares, ubicándose en segundo lugar de importancia, solo por detrás de la industria forestal (OPYPA, 2022).

En el Uruguay, la producción de carne y de lana son fundamentalmente de carácter extensivo y se realizan con base en pasturas naturales. La ganadería y la lechería ocupan un 78 % de la superficie agropecuaria, cubierta en gran parte por campo natural (64 %), y en menor porcentaje, por pasturas mejoradas, praderas sembradas y cultivos forrajeros anuales (14 %) (MVOTMA, 2019). Bajo este escenario, gran parte de la producción nacional de carne depende de las condiciones climáticas, tal cual se ha visto en los últimos años donde la sequía, explicada, entre otro, por el efecto de La Niña, han impactado en la producción primaria (MGAP-OPYPA, 2021).

Por otro lado, se prevé que la demanda mundial de carne y leche aumente un 73 % y 58 %, respectivamente, para 2050, en comparación con los niveles de 2010, debido a la continua expansión de la población mundial, una clase media emergente, el aumento de los ingresos y la urbanización (Gerber et al., 2013). Junto con esto, el aumento de la conciencia medioambiental y del vegetarianismo, unido a la aparición de leche y carne sintéticas y a la escasez de recursos, que ponen en cuestionamiento a la industria ganadera (Beauchemin et al., 2020). En este contexto, es necesario que la producción de rumiantes desarrolle estrategias de producción que permitan disminuir las emisiones de forma rentable y al mismo tiempo satisfacer la demanda de alimentos de los consumidores sin competir por los alimentos con la población humana.

## 1.5. INVENTARIOS GEI EN URUGUAY

Mediante la creación y fortalecimiento de arreglos institucionales desde el año 2009, incluyendo la definición de una Política Nacional de Cambio Climático en 2017, así como la aplicación de diversas políticas sectoriales, el Uruguay ha realizado considerables esfuerzos para fortalecer su capacidad institucional para afrontar la problemática del cambio climático. Entre estos se encuentra la creación en 1990 del Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente (MVOTMA), cuyas atribuciones fueron entregadas al nuevo Ministerio de Ambiente en el año 2020. Este último posee como uno de sus objetivos principales ser el punto focal ante la Convención (CMNUCC) y es la autoridad nacional competente para la instrumentación y aplicación de esta y de sus mecanismos, debiendo presentar a la Convención los inventarios de gases de efecto invernadero (INGEI) las Comunicaciones Nacionales, los Informes Bienales de Actualización y asimismo las comunicaciones al Acuerdo de París.

Los inventarios nacionales de GEI son una herramienta utilizada por los gobiernos de cada país y muestran las contribuciones de cada tipo de gas y sus principales fuentes de origen. Es así como en Uruguay, a partir del año 1990, se han elaborado inventarios, comunicados e informes bienales que informan las emisiones de cada tipo de gas y sector. Los últimos resultados de GEI reportaron un aumento del 8,5 % entre 1990 y 2017, siendo las emisiones de metano (CH<sub>4</sub>) su principal contribuyente, con un aumento del 13,6 % en la serie temporal 1990-2016 (MVOTMA, 2019). Las emisiones netas de metano del año 2017 expresadas en Gg de CO<sub>2</sub>-eq, utilizando la métrica GWP<sup>100AR2</sup> y sin considerar las remociones netas de CO<sub>2</sub>, representan un 47,5 % del total de las emisiones nacionales. Es así como las emisiones de CH<sub>4</sub> del sector agropecuario para el mismo año alcanzaron los 734,2 Gg, siendo un 87 % del total de emisiones de CH<sub>4</sub> (tabla 2), proviene principalmente de la fermentación entérica del ganado vacuno no lechero (85,6 %) (MVOTMA, 2019).

**Tabla 2.** Reporte resumen del Inventario Nacional de Gases de Efecto Invernadero de Uruguay el 2017 del total de emisiones y del sector Agricultura, silvicultura y otros usos de la tierra (AFOLU). Adaptado de (MVOTMA, 2019).

Categorías	Emisiones (Gg)			Emisiones CO <sub>2</sub> <sup>eq</sup> (Gg)(GWP100AR2)				Emisiones (Gg)				
	CO <sub>2</sub> neto	CH <sub>4</sub>	N <sub>2</sub> O	HFCs	PFCs	SF <sub>6</sub>	Otros gases halogenados con factor de conversión CO <sub>2</sub> <sup>eq</sup>	Otros gases halogenados sin factor de conversión CO <sub>2</sub> <sup>eq</sup>	NO <sub>x</sub>	CO	COVDM	SO <sub>2</sub>
<b>Emisiones y remociones totales nacionales</b>	-5807	787	28.6	133	N0	1	N0	4.43E-03	57.3	804	142	24.6
<b>Agricultura, silvicultura y otros usos de la tierra</b>	-12170	734							0.3	7.1		
<b>3.A-Ganado</b>		718	3.20E <sup>-02</sup>									
<b>3.B-Tierra</b>	-12338	IE	IE						IE	IE		
<b>3.C-Fuentes agregadas y fuentes de emisión No-CO<sub>2</sub> en la tierra</b>	168	16	27.6						0.3	7.1		
<b>3.D-Otros</b>		N0	N0						N0	N0	N0	N0

La elaboración de los inventarios se desarrolla, generalmente, a partir de factores de emisión estándares para cada tipo de gas y fuente propuestos por el Panel Intergubernamental de Cambio Climático (IPCC). Un factor de emisión es construido a partir de valores propuestos por la literatura y consiste en aplicar un determinado valor a una respectiva actividad humana y resolver qué cantidad de GEI es aportada por tal. En el caso del gas metano proveniente de la actividad agropecuaria, teniendo a la fermentación entérica como principal contribuyente, el IPCC propone utilizar como factor de emisión la cantidad de CH<sub>4</sub> emitido por unidad de energía bruta ingerida (EBI) por un animal, denominado Y<sub>m</sub> (*methane yield*, por sus siglas en inglés). El valor de Y<sub>m</sub> por defecto propuesto por el IPCC, (2006) para animales en condiciones de pastoreo es de 6,5 %, mientras que para animales en condiciones de corral es de 3 %. Estos valores son utilizados para estimar las emisiones de GEI que tendrían una cantidad de animales en un período de tiempo. Sin embargo, la aplicación de estos factores por defecto para el cálculo de las emisiones en distintos escenarios

productivos cuando no se cuenta con factores locales pueden llevar a una sub- o sobreestimación de los reportes de GEI (Jaurena et al., 2015).

## 1.6. GANADERÍA Y METANO

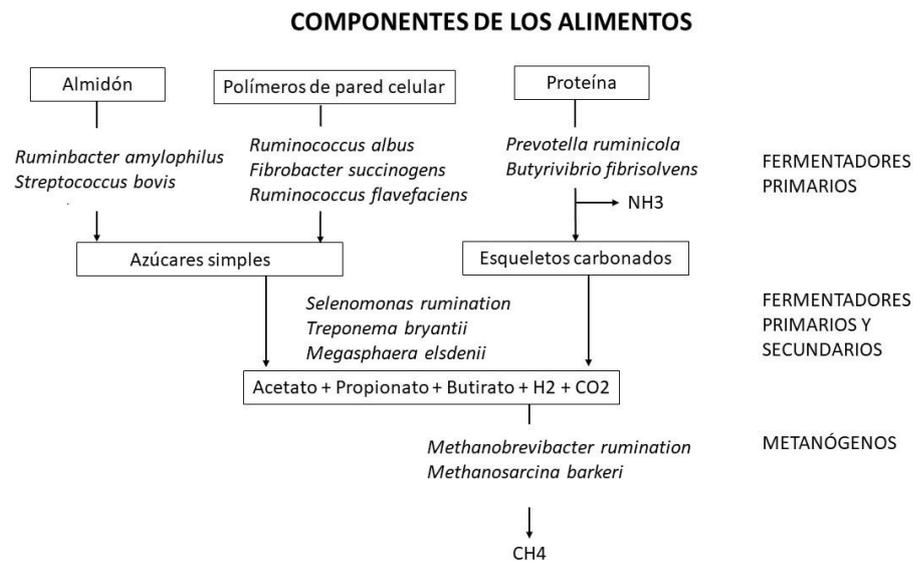
### 1.6.1. Producción de metano entérico

De los GEI producidos por la ganadería, el CH<sub>4</sub> entérico producido por los rumiantes es el principal gas contribuyente, con aproximadamente un 6 % de las emisiones antropogénicas (Gerber et al., 2013). Caso particular es lo que ocurre con el Uruguay, ya que, a diferencia de los países industrializados, sus principales emisiones de GEI provienen del sector agropecuario, específicamente y en orden de relevancia, el gas CH<sub>4</sub> y el N<sub>2</sub>O (ETIHAG, 2022, MVOTMA, 2019).

En el sector productivo ganadero, el CH<sub>4</sub> corresponde al producto final del proceso de fermentación entérica de los rumiantes (Moe y Tyrrell, 1979). Su producción, principalmente ruminal (~90 %) y, en menor medida (~10 %), en el intestino grueso, surge a través de las fermentaciones de carbohidratos hidrolizados, realizadas por un grupo importante de microorganismos llamados metanogénicos, entre los que se destaca el género *Archaea* (Moss et al., 2000). La mayor o menor producción de este gas se debe a una gran cantidad de factores, tales como: la alimentación, la raza, la tasa de crecimiento del animal, el nivel de producción y la genética del animal, así como también la temperatura ambiental (Sejian et al., 2011). Entre los factores mencionados, el más importante es la alimentación, pues está directamente involucrado en la producción de CH<sub>4</sub> (metanogénesis) que, en mayor o menor medida, depende de la cantidad, la calidad y el tipo del alimento ingerido (Clark et al., 2010, Hammond et al., 2011, Johnson y Johnson, 1995).

Generalmente, los nutrientes ingeridos por el rumiante a través del alimento no están directamente disponibles para ser utilizados, siendo la masticación, y el ambiente ruminal actores claves para su aprovechamiento. La masticación permite ejercer una acción mecánica sobre los alimentos, mejorando, entre otras cosas, la superficie de contacto para su digestión. En el rumen, por otro lado, los alimentos y líquidos ingeridos se mezclan y se mantienen en condiciones anaeróbicas, normalmente a un pH de 5,6-6,7 y 39 °C (Janssen, 2010). La comunidad microbiana que reside en el rumen, a través de distintas enzimas, es capaz de actuar sobre los carbohidratos de reserva (almidón) y sobre los carbohidratos estructurales (celulosa, hemicelulosa y

pectinas) componentes de la pared celular, que otros seres vivos no logran digerir. Las enzimas de estos microorganismos permiten, a través de distintas vías, la fermentación de estos azúcares y dan lugar a la formación de ácidos grasos volátiles (AGV) (acético, butírico y propiónico), fundamentales para la nutrición propia del animal, así como también su propio crecimiento y proliferación (De Blas et al., 2008), pero también algunos productos como CO<sub>2</sub>, calor y CH<sub>4</sub> (McAllister et al., 1996, Figura 3). Sin embargo, la proporción en la que ocurran estas vías impactarán en mayor o menor medida sobre la producción de CH<sub>4</sub>.



**Figura 3.** Vías y productos de la fermentación ruminal del alimento ingerido. Adaptado de McAllister et al. (1996).

En la Figura 4 se puede observar las vías de fermentación que benefician la formación de los ácidos grasos volátiles acético y butírico que promueven la producción de CH<sub>4</sub>, pues liberan H<sup>+</sup>, mientras que las vías que fomentan la formación del ácido graso volátil propiónico permite una captura de estos H<sup>+</sup> y, por lo tanto, una disminución de la producción de CH<sub>4</sub> (Knapp et al., 2014).

Glucosa  $\longrightarrow$  2 Piruvato + 4H  
(Metabolismo carbohidratos)

Piruvato + H<sub>2</sub>O  $\longrightarrow$  Acetato + CO<sub>2</sub> + 2H

Piruvato + 4H  $\longrightarrow$  Propionato + H<sub>2</sub>O

2 Acetato + 4H  $\longrightarrow$  Butirato + 2 H<sub>2</sub>O

**Figura 4.** Productos del metabolismo de carbohidratos en el rumen. Adaptado de Knapp et al. (2014).

#### 1.6.2. Dieta y producción de CH<sub>4</sub>

La cantidad de ingesta del alimento afecta los procesos de fermentación en el rumen. En términos absolutos, las emisiones de CH<sub>4</sub> están directamente determinadas por el nivel de ingesta, es decir, cuanto mayor es la materia seca ingerida DMI (*dry matter intake*, por sus siglas en inglés), mayor será la emisión neta (g/d) (Moorby et al., 2015). Sin embargo, una mejor calidad del alimento suministrado, por ejemplo, asociado a la inclusión de granos, tendría efectos reductores en la metanogénesis, pues la fermentación ruminal producirá mayores niveles de ácido propiónico, el cual compite por iones de H<sup>+</sup> con el proceso de producción de CH<sub>4</sub>, lo que provoca una reducción en la cantidad de CH<sub>4</sub> entérico en el rumen (Lovett et al., 2005). Por otro lado, forrajes de alta calidad nutricional conducen a menores emisiones de CH<sub>4</sub> por unidad de DMI (CH<sub>4</sub>/kg DMI) en comparación con forrajes de baja calidad (Blaxter y Clapperton, 1965, Hammond et al., 2011, Lee et al., 2004, McCaughey et al., 1997). Esto estaría directamente relacionado con la digestibilidad y con la cantidad de fibra contenida en el alimento (Kebreab et al., 2008). Es decir, forrajes con niveles más bajos de fibra (FDN) y con una mayor digestibilidad tendrían un efecto negativo sobre la producción de CH<sub>4</sub> ruminal, pues estimulan en menor medida la rumia, aumenta la tasa de pasaje y, por lo tanto, se presenta una fermentación con menores niveles de ácido acético e hidrógeno y mayores niveles de ácido propiónico (Hammond et al., 2011, Janssen, 2010).

Un alto contenido de fibra (FDN) y una baja digestibilidad son factores que favorecerían los procesos metanogénicos en el rumen y, por lo tanto, acentuarían la producción y emisión de CH<sub>4</sub>. Esto impacta de gran manera a Uruguay, pues sus sistemas de producción de carne bovina se dan, en su mayoría, bajo dietas con base

forrajera (> 80 %, MGAP-OPYPA, 2021), con una gran variación en su calidad medida por su contenido de FDN, existiendo forrajes cultivados con variación entre 35 y 55 % de FDN, hasta forrajes provenientes de campo natural con valores que pueden alcanzar 50-80 % de FDN en distintos momentos del año (Mieres, 2004).

#### 1.6.3. Medición de consumo y emisiones de CH<sub>4</sub>

La cantidad y calidad del alimento ingerido por el animal son variables imprescindibles para conocer su impacto en la producción de CH<sub>4</sub>. Existen precedentes que afirman que los efectos de la calidad de la dieta en la producción de CH<sub>4</sub> varían de acuerdo con la unidad de consumo de alimento (Johnson y Johnson, 1995). Esto es uno de los principales problemas en los sistemas pastoriles, pues, aunque existen numerosas técnicas que permiten la estimación del consumo efectivo del animal, estas poseen ciertas dificultades propias del método y del comportamiento selectivo del animal que afectan la confiabilidad de los resultados obtenidos. Están los métodos de medición de consumo directos, como la medición de pre- y pospastoreo, métodos mecánicos, que utilizan ecuaciones elaboradas principalmente con componentes nutricionales, y los métodos indirectos, como los marcadores externos (ej., técnica del marcador externo con dióxido de titanio) (Ayres, 1991, Burns et al., 2015, Dini et al., 2018, Oliveira et al., 2016, Smith et al., 2021).

#### 1.6.4. Intensidad de emisión de CH<sub>4</sub>

Uno de los parámetros ampliamente aceptado en la discusión científica y recomendado por el IPCC es el rendimiento de conversión de metano, Y<sub>m</sub> (por sus siglas en inglés). Este corresponde al metano producido por unidad de alimento ingerido, es decir, cuánto de la energía bruta ingerida (EBI) en el alimento es transformado en metano (Lassey, 2007). Este valor está muy relacionado con la dieta y al tipo de alimento que es ingerido (Johnson y Johnson, 1995). En dietas con predominio de concentrados el (IPCC 2006) recomienda valores de Y<sub>m</sub> cercanos a 4 %, mientras que para dietas con predominio de forrajes valores entre 6 y 7 %.

Con estos antecedentes en un escenario productivo utilizando una dieta forrajera y un valor Y<sub>m</sub> de 6,5 %, al considerar el contenido de EBI que, en su mayoría, para los forrajes es de 18,4 MJ por cada kg de MS, y, a su vez, tomando en consideración el contenido energético del metano (55,65 MJ/kg), en términos de intensidad de emisión, los valores de intensidad por kg de materia seca ingerida corresponderían a 21,49 g

(Lassey, 2007). Sin embargo, estos valores de intensidad de g de CH<sub>4</sub>/kg DMI, así como también de Y<sub>m</sub>, han sido ampliamente discutidos (Jaurena et al., 2015). Dini et al. (2018) realizaron mediciones *in situ* en vaquillonas Hereford en pastoreo con distintas calidades de forraje durante invierno y primavera. La calidad fue definida por la composición química (PC y FDN) y la digestibilidad del forraje en la pastura. Durante el invierno se presentaron valores de entre 21,6 y 23,6 g CH<sub>4</sub>/kg DMI, mientras que para la primavera los valores oscilaron entre 14,3 y 16,8 g CH<sub>4</sub>/kg DMI para dietas de alta y baja calidad de forraje, respectivamente. Este mismo estudio propone valores de Y<sub>m</sub> de 7 % y 7,9 % para el invierno consumiendo una dieta de alta y baja calidad, mientras que para la primavera fue de 5,2 % para un forraje de baja calidad y de 4,2 % para alta calidad. Como es posible observar, la intensidad de emisión y de el factor Y<sub>m</sub> presentan una importante variabilidad y se relacionan con las condiciones de cada tipo de producción y alimentación (Jaurena et al., 2015). Por lo que utilizar un valor fijo de Y<sub>m</sub> como una medida estandarizada para toda una región podría estar generando una sub- o sobreestimación de las emisiones que luego serían reportadas en los inventarios nacionales.

### 1.7. MODELOS DE PREDICCIÓN DE EMISIONES

Cuantificar las emisiones de CH<sub>4</sub> entérico es complejo, más aún cuando estas se desarrollan en ambientes con una gran variabilidad (Lassey, 2007). Por esto se han desarrollado como herramienta de estimación el uso distintos modelos de ecuaciones para la emisión de CH<sub>4</sub> entérico. Estos modelos utilizan distintos parámetros dentro de sus ecuaciones tales como el peso vivo o bien algún componente nutricional de un determinado alimento (Benaouda et al., 2019). Sin embargo, la capacidad de predecir con precisión la producción de metano está limitada a los supuestos y condiciones que deben cumplirse para cada ecuación en particular (Goopy et al., 2016, Santiago-Juarez et al., 2016). En la actualidad, se pueden encontrar varios estudios realizados con la finalidad de establecer ecuaciones de predicción para emisiones de metano (Ellis et al., 2010, Moraes et al., 2014) y evaluar cuál de ellas se ajusta más a un valor observado (Benaouda et al., 2019, Escobar-Bahamondes et al., 2016). La mayoría de estas ecuaciones de predicción parten de la base de conocer el consumo de materia seca, debido a que la producción de este gas depende directamente de este factor (Escobar-Bahamondes et al., 2016, Jonker et al., 2018). Sin embargo, se conoce que la emisión de metano también depende de la calidad del alimento ingerido (Boadi y Wittenberg, 2002). Es así como surge la inclusión como variable a los modelos la energía bruta

ingerida y la concentración de FDN, estableciendo ecuaciones predictoras que minimizan el error (Santiago-Juarez et al., 2016). Si bien estas ecuaciones pueden resultar de utilidad, la elevada variabilidad reportada en los valores de emisiones, sumado a los supuestos y condiciones que deben considerarse para cada ecuación, pueden limitar su capacidad de predicción (Escobar-Bahamondes et al., 2016).

## 1.8. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Si bien existen antecedentes de investigación nacional sobre la cuantificación de las emisiones GEI, esta aún es escasa; por lo tanto, hace necesario conocer en forma detallada y cuantitativa las emisiones de gran variedad de sistemas de producción, con las particularidades que cada uno posee. Desarrollar factores de emisión locales propios y evaluar alternativas de manejo que mejoren la eficiencia productiva y mitiguen las emisiones de GEI sin duda favorecerá la sostenibilidad de los sistemas agropecuarios del Uruguay. Además, frente a la creciente presión de los mercados internacionales, que responden a consumidores finales cada vez más exigentes en cuanto a los procesos de producción de los productos alimenticios que consumen, se fuerza aún más la necesidad de generar alternativas ambientalmente sostenibles que al mismo tiempo aseguren la rentabilidad económica de los sistemas de producción.

La importancia que presenta para el Uruguay la producción ganadera bajo dietas forrajeras, la relevancia que esta implica en la matriz de GEI del país, las posibles limitaciones de los modelos de predicción, sumado a las dificultades que implican las mediciones de consumo en pastoreo, hacen necesario desarrollar el conocimiento que permita cuantificar de forma certera las emisiones. Por otro lado, resulta de interés evaluar los efectos de la variación en el contenido de fibra en una dieta con base forrajera sobre las emisiones de CH<sub>4</sub>. Además, disponer en el ámbito nacional de información sobre la emisión de CH<sub>4</sub> para la fase final del ciclo productivo de novillos puede ser un gran aporte a las estrategias a adoptar para la sostenibilidad de los sistemas productivos del país.

## 1.9. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

### 1.9.1. Hipótesis

Una dieta forrajera con menor contenido en FDN reduciría las emisiones de metano y la intensidad de las mismas, en comparación con la misma dieta forrajera con mayor contenido en FDN.

### 1.9.2. Objetivo general

Evaluar las emisiones de CH<sub>4</sub> entérico de novillos de carne bajo dietas forrajeras con distintos contenidos de fibra.

### 1.9.3 Objetivos específicos

- i.** Identificar el efecto de dietas forrajeras con distinto contenido de fibra (FDN) sobre el consumo y la ganancia media de peso de novillos en terminación.
- ii.** Cuantificar las emisiones de CH<sub>4</sub> entérico según contenido de FDN de la dieta suministrada.
- iii.** Evaluar la predicción de modelos de estimación sobre las observaciones de emisión de CH<sub>4</sub> entérico en distintos trabajos, obtenidas a través de la medición *in situ* de animales consumiendo dietas con base forrajera.

## 2. BEEF STEERS AND ENTERIC METHANE: REDUCING EMISSIONS BY MANAGING FORAGE DIET FIBER CONTENT



Article

### Beef Steers and Enteric Methane: Reducing Emissions by Managing Forage Diet Fiber Content

Daniel Santander <sup>1</sup>, Juan Clariget <sup>1</sup>, Georget Banhero <sup>1</sup>, Fabiano Alecrim <sup>1,2</sup>, Claudia Simon Zinno <sup>1</sup>, Julieta Mariotta <sup>1</sup>, José Gere <sup>3</sup> and Verónica S. Ciganda <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Estación Experimental La Estanzuela, Ruta 50 km 11, Semillero, Colonia 70006, Uruguay

<sup>2</sup> Departamento de Geoquímica, Universidade Federal Fluminense, Outeiro São João Baptista s/n, Niterói 24020-141, Brazil

<sup>3</sup> Engineering Research and Development Division, National Technological University (UTN),

National Scientific and Technical Research Council (CONICET), Buenos Aires C1179, Argentina

\* Correspondence: vciganda@inia.org.uy; Tel.: +598-98451147

**Simple Summary:** Methane (CH<sub>4</sub>) is one of the main GHGs that is emitted by ruminant production systems, making its quantification important. A total of two forage diets with different fiber contents were fed to beef steers, and their enteric CH<sub>4</sub> emissions were evaluated. Additionally, the predicted values from different models were compared with the observations from different studies. The animals with a moderate fiber diet had better performance and lower intensity of CH<sub>4</sub> emissions. The model with the best accuracy and precision was the one that was suggested by the IPCC 2006 Guidelines.

**Abstract:** Understanding the methane (CH<sub>4</sub>) emissions that are produced by enteric fermentation is one of the main problems to be solved for livestock, due to their GHG effects. These emissions are affected by the quantity and quality of their diets, thus, it is key to accurately define the intake and fiber content (NDF) of these forage diets. On the other hand, different emission prediction equations have been developed; however, there are scarce and uncertain results regarding their evaluation of the emissions that have been observed in forage diets. Therefore, the objectives of this study were to evaluate the effect of the NDF content of a forage diet on CH<sub>4</sub> enteric emissions, and to evaluate the ability of models to predict the emissions from the animals that are consuming these forage diets. In total, thirty-six Angus steers ( $\bar{x}$  = 437 kg live weight) aged 18 months, blocked by live weight and placed in three automated feeding pens, were used to measure the enteric CH<sub>4</sub>. The animals were randomly assigned to two forage diets (n = 18), with moderate (<50%, MF) and high (>50%, HF) NDF contents. Their dry matter intake was recorded individually, and the CH<sub>4</sub> emissions were measured using the SF<sub>6</sub> tracer gas technique. For the model evaluation, six prediction equations were compared with 29 studies (n = 97 observations), analyzing the accuracy and precision of their estimates. The emission intensities per unit of DMI, per ADG, and per gross energy intake were significantly lower (p < 0.05) in the animals consuming the MF diet than in the animals consuming the HF diet (21.7 vs. 23.7 g CH<sub>4</sub>/kg DMI, 342 vs. 660 g CH<sub>4</sub>/kg ADG, and 6.7% vs. 7.5%, respectively), but there were no differences in the absolute emissions (p > 0.05). The best performing model was the IPCC 2006 model (r<sup>2</sup> = 0.7, RMSE = 74.04). These results show that reducing the NDF content of a forage diet by at least 10% (52 g/kg DM) reduces the intensity of the g CH<sub>4</sub>/kg DMI by up to 8%, and that of the g CH<sub>4</sub>/kg ADG by almost half. The use of the IPCC 2006 model is suitable for estimating the CH<sub>4</sub> emissions from animals consuming forage-based diets.

**Keywords:** cattle; mitigation; intake; forage; sulfur hexafluoride; quality



**Citation:** Santander, D.; Clariget, J.; Banhero, G.; Alecrim, F.; Simon Zinno, C.; Mariotta, J.; Gere, J.; Ciganda, V.S. Beef Steers and Enteric Methane: Reducing Emissions by Managing Forage Diet Fiber Content. *Animals* **2023**, *13*, 1177. <https://doi.org/10.3390/ani13071177>

Academic Editor: Francisco Javier Solorio-Sánchez

Received: 17 February 2023

Revised: 21 March 2023

Accepted: 23 March 2023

Published: 28 March 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Consumers worldwide have shown great concern about climate change and its consequences, especially those due to the greenhouse gas (GHG) emissions that are associated with animal and agricultural production systems. These systems produce approximately 17% of the global anthropogenic GHG emissions, and methane (CH<sub>4</sub>) and nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) are the most commonly emitted gasses [1]. In Uruguay, the livestock sector is identified as one of the anthropogenic activities that contributes to GHG emissions the most, contributing 70% of the total emissions. Most of these are CH<sub>4</sub> gas emissions, with enteric fermentation being the main contributor (46%) [2]. In addition, the enteric production of CH<sub>4</sub> gas by cattle is a loss of energy from the feed consumed, resulting in a productive inefficiency [3–5]. Thus, improving the environmental efficiency of beef production systems would contribute to mitigating these GHG emissions and thus climate change [6].

The production of CH<sub>4</sub> (methanogenesis) in ruminants is a by-product of the rumen (~90%) and large intestine (~10%) digestion that is derived from the fermentation of consumed carbohydrates [7,8]. In recent decades, scientists have made efforts to understand the factors affecting methanogenesis in the rumen, evaluating effects from animal genetics to livestock management techniques [6]. However, nutritional quality and the amount of feed intake are the main regulatory factors that have been identified which determine CH<sub>4</sub> production [9]. In Uruguay, beef cattle systems are mainly based on diets with a high forage inclusion (>70%) [10] that show great variations in their nutritional quality [11]. Frequently, such a variation in quality results from the proportion of the structural carbohydrates that are present in the diet, which are expressed as components of neutral detergent fiber (NDF). The variability in the NDF content is mainly due to the plant species that are present in the forage diet, the maturity stage of such species, the pasture management, and the climate conditions [12,13]. The NDF content in climate template forages has been reported to vary from 35 to 55% in cultivated forages and between 50 and 80% in natural forages [11,14].

It is known that low quality diets with a high NDF content may favor and stimulate the methanogenic processes in the rumen [15,16]. However, studies that have aimed to explain how the increment in NDF intake affects the CH<sub>4</sub> emissions have come to no clear conclusions. For example, Primavesi et al. [17] compared the CH<sub>4</sub> emissions from animals that were fed with two sugarcane varieties with contrasting NDF values (44.2% and 54.7% NDF) and found that, despite no difference in the intake, the use of the lower NDF variety produced 30% less CH<sub>4</sub> emissions than the higher NDF diet. On the other hand, Hammond et al. [18] evaluated the addition of NDF to chopped straw and soy hulls, (+47 g/kg DM) in two types of forage diets (corn silage and grass silage), finding no difference in the intake but also no difference in the methane emissions. Both studies included supplementation with different feeds, and this could be hiding the actual effects of reducing the NDF content on the measured variables.

The effects of diet quality on CH<sub>4</sub> production also vary as a function of the quantity of the feed intake [16,19,20]. A higher feed intake results in higher CH<sub>4</sub> emissions, mainly due to the increment in the amount of feed that is available for fermentation. This relation was shown by Boadi and Wittenberg [21], who evaluated the effects of cattle breed type and forage quality on the methane production under ad libitum, and restricted the feeding conditions. In both situations, the level of feed that was offered affected the CH<sub>4</sub> production, and the dry matter intake (DMI) was strongly correlated with methane production ( $r^2 = 0.8$ ).

The individual feed intake of the forage under grazing conditions appears to be difficult to determine. In this sense, indirect methods of intake measurement, such as external markers, can generate uncertainties that, in turn, prevent the measurement of accurate results [22,23]. On the other hand, the use of automatic feeders, in which cut forage is offered to cattle, is an effective alternative to avoid this problem and could be considered to be an accurate tool to measure individual intake [4,24]. Therefore, the use of such techniques could give precise DMI results and improve our understanding of the effect of the NDF content of forage diets on enteric CH<sub>4</sub> emissions.

In recent years, different prediction equations (Tier 2 approach) have been developed as a strategy to help estimate the methane emissions from livestock [25–28]. Using different dietary variables to estimate the enteric CH<sub>4</sub> production, these equations have shown a good accuracy. A set of them has been developed using the NDF variable as one of its main components [25,29]. Furthermore, Escobar-Bahamondes et al. [27] and Benauda et al. [30] evaluated the performance of such prediction equations, finding correlation coefficients of up to 0.6 and 0.5 for the diets with a high forage inclusion and for the diets with different NDF qualities, respectively. Although the validation of these equations for diets with a high forage inclusion and different NDF contents is still limited, they are a particularly useful and promising approach to defining CH<sub>4</sub> emissions while considering the NDF diet content.

In the present study, we hypothesize that a forage diet with a lower NDF content would reduce the methane emissions and the intensity of these emissions, when compared with the same forage diet with a higher NDF content. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of the NDF content of a forage diet on the enteric CH<sub>4</sub> emissions of cattle growing steers. To achieve this objective, the following specific objectives were proposed: (i). to identify the effect of increasing the fiber content (NDF) on the intake, digestibility, average daily gain, absolute enteric CH<sub>4</sub> emissions, and emission intensity; and (ii). to evaluate the predictive power of the different enteric CH<sub>4</sub> prediction equations that have been proposed for feeding forage diets and NDF.

## 2. Materials and Methods

The study was conducted at the Experimental Station INIA La Estanzuela (Colonia, Uruguay, GPS Coordinates: S Latitude 34°20′ 23.72″ S, W length 57°41′ 39.48″ W) during the months of April to July 2021 (97 days). All the procedures involving animals were approved by the Committee for the Ethical Use of Animals at the National Institute of Agricultural Research (INIA-Uruguay, Protocol number 2020-5).

### 2.1. Experimental Design and Animals

The study was conducted using 36 18-month-old Angus steers with an average live weight of  $437 \pm 7$  kg (BW). The study was carried out between April and July (97 days) of 2021. The animals were blocked by BW and randomly assigned to one of two treatment groups (n = 18). The steers were distributed into three different pens, where each pen had four automatic feeders (INTERGADO, Minas Gerais, Brazil) with access-limiting doors. Before beginning the trial, the animals were subjected to a 47-day common feeding period on the automatic feeders, which consisted of ad libitum grass haylage. This acclimatization period was used to accustom the animals to their environment and feeding system, and to reduce any latent influence of their previous nutritional management. The daily intake for each steer was registered automatically using the ear tag of each steer and the electronic scales of each feeder. During the experiment, the corresponding treatment was offered ad libitum three times a day at 06:30 h, 13:00 h, and 19:30 h.

### 2.2. Treatments

The treatments consisted of two forage diets of different qualities: (1). The moderate-fiber (MF) forage diet, which consisted of 100% alfalfa and orchard-grass haylage; and (2). the high-fiber (HF) forage diet, which consisted of 70% alfalfa, plus orchard-grass haylage, and 30% barley straw. The complete chemical composition of both diets is shown in Table 1. To avoid selectivity of diet components by the animal, the forage was offered homogeneously. For this purpose, the differences in the fiber sizes ( $\leq 70$  mm) were avoided, both at the time of the forage conservation (harvesting, airing, and preservation) and during the administration (chopping and mixing). The amount of feed that was offered was adjusted daily to guarantee a daily refusal of 5% of the total amount that was supplied, in order to ensure ad libitum intake. The feeders were cleaned, and the refuse was removed and discarded three times per week.

**Table 1.** Chemical composition of forage diets with moderate fiber content (MF) and high fiber content (HF).

Parameter	Diet	
	Moderate Fiber (MF)	High Fiber (HF)
DM, g/kg of fresh matter	579	631
OM	877	880
NDF	491	543
ADF	332	392
Lignin	74	82
CP	148	121
EE	28	24
Ash	123	120
NFC	210	192
NFC:NDF	0.43	0.35

DM: dry matter; OM: organic matter; NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber; CP: crude protein; EE: ether extract; and NFC: non-fiber carbohydrates.

### 2.3. Chemical Analysis of Feed

The food samples were collected three times a week from the feeding pens, making monthly pools for the chemical analysis. The feed samples were dried in a forced-air oven at 60 °C for 48 h and were ground through a 1 mm screen before the chemical analysis. The dry matter (DM) concentration was determined by drying at 105 °C in an oven for 24 h (UNIT-ISO 6496:1999), and the ash content was determined by incineration at 600 °C for 4 h (UNIT-ISO 5984-2002). The crude protein (CP) was determined using the Kjeldahl method (7.021 procedure), according to A.O.A.C [31]. The ether extract (EE) was determined with an ANKOM<sup>xt15</sup> extractor, using petroleum ether extraction (AOCS AM 5-04, Ankom Technology Corp., Fairport, NY, USA). The NDF and ADF were determined with an Ankom Fiber Analyzer (ANKOM<sup>a2000i</sup>, Ankom Technology Corp., Fairport, NY), using the filter bag technique. The acid detergent lignin (Lig.) was determined using a sequential analysis and is expressed exclusively in terms of residual ash, according to the method of Van Soest et al. [32]. The gross energy (GE) was determined using an adiabatic bomb calorimeter (Gallenkamp Autobomb; Loughborough, Leics, UK). The concentration of the non-fiber carbohydrates (NFC) was calculated as suggested by the NRC [33] (Equation (1)).

$$\text{NFC (\%)} = 100 - (\text{NDF\%} + \text{CP\%} + \text{EE\%} + \text{Ash\%}) \quad (1)$$

### 2.4. Feed Intake and Animal Performance

The individual daily feed intake of each animal was recorded and monitored throughout the period by the automatic feeders (INTERGADO, Minas Gerais, Brazil). Each animal was identified with an electronic ear tag, which was linked to the door of each feeder and its corresponding diet. The steers' LWs, without fasting, were recorded every 14 d. The weighing was performed before 0630 h, when the first meal was provided. The average daily gain (ADG) was calculated as a lineal regression of the LW (unshrunk) slope for each steer, as recommended by Crews and Carstens [34]. The daily intake of the OM, CP, NDF, ADF, Lig, Ash, EE, and GE were estimated for each steer by multiplying its individual intake by the content of each chemical component of the diets.

### 2.5. Digestibility of Diet and Fiber

For the determination of the apparent digestibility of the digestive tract, individual feces samples were extracted directly from the rectum. The samples were collected over five consecutive days [35], and at the end of the experimental period. They were air-dried at a temperature of 65 °C for 72–96 h. The samples were analyzed via the insoluble acid ash technique as an internal marker of digestibility (UNIT-ISO 5985-2002). In addition, an analysis of the digestibility of the NDF was carried out with the NDF content of the fecal

samples, the total fecal excretion that was estimated from the previously analyzed apparent digestibility, and the individual intake of each animal.

#### 2.6. Determination of CH<sub>4</sub> Emissions

The determination of the enteric CH<sub>4</sub> emissions was performed using the sulfur hexafluoride (SF<sub>6</sub>) tracer technique [16], adapted by Gere and Gratton [36]. A total of ten days before the beginning of the measurements, each animal was given an oral permeation tube that was filled with SF<sub>6</sub>, using a plastic dosing applicator. The permeation rates of the SF<sub>6</sub> from the tubes were, on average, 6.57 mg/day. Burped and breath air samples were collected for five consecutive days before the end of the 97-day experimental period. The CH<sub>4</sub> collection devices for each animal consisted of two stainless steel cylinders of 0.5 L, which had been previously cleaned with high-purity nitrogen gas (N<sub>2</sub>) and pre-evacuated (<0.5 mb). Both the cylinders were coupled to a muzzle and placed on each side of a backpack that was adjusted on the animal. Each cylinder was connected to an airflow regulator that was restricted by a steel ball bearing, which ended approximately 3 cm from the animal's nostril. The inflow regulators were calibrated before each collection event, in order to allow a vacuum to remain in the steel cylinders of approximately 500 mb by the end of the sampling period (five days). In total, three additional cylinders were placed on each feeding pen in the experimental area to collect the air samples that represented the environmental CH<sub>4</sub> and SF<sub>6</sub> concentrations (background samples).

Following the procedure that was performed by other authors [37–39], at the end of the five-day sampling period, the cylinders were removed and the post-sampling pressure was measured. The containers with pressure values of 400–600 mb were considered to be valid and ensured good quality samples [36]. The containers with pressure values <400 or >600 mb were removed from the experiment. In total, 86% of the samples were considered to be valid for analysis. A total of four sub-samples were extracted from each container and stored in 6 mL vacutainers for determining the CH<sub>4</sub> and SF<sub>6</sub> concentrations using gas chromatography.

#### 2.7. Gas Analysis and Calculation

The concentrations of the CH<sub>4</sub> and SF<sub>6</sub> were determined with chromatography. The sub-samples were analyzed using a gas chromatograph (Agilent 7890A, Santa Clara, CA, USA), with a flame ionization detector (FID) and an electron capture detector (ECD), for determining the CH<sub>4</sub> and SF<sub>6</sub> concentrations, respectively. The maximum delay between the collection and the determination of the CH<sub>4</sub> and SF<sub>6</sub> concentrations was 20 days. After conducting a chromatographic analysis of the samples, the emissions of the CH<sub>4</sub> per animal were calculated using the permeation rate of each SF<sub>6</sub> capsule (PR) and the atmospheric (atm) and enteric (ent) concentrations of the CH<sub>4</sub> and SF<sub>6</sub>, considering the molecular weight (MW) of each one (Equation (2)).

$$\text{CH}_4 \text{ (g day}^{-1}\text{)} = \text{SF}_6 \text{ PR (mg day}^{-1}\text{)} \times [\text{CH}_4 \text{ ent} - \text{CH}_4 \text{ atm (ppm)/SF}_6 \text{ ent} - \text{SF}_6 \text{ atm (ppt)}] \times [(16 \text{ (MW CH}_4\text{)}) / (146 \text{ (MW SF}_6\text{)})] \times 1000 \quad (2)$$

The methane conversion rate (Y<sub>m</sub>) was calculated following the equation that was proposed by the IPCC 2006 Guidelines [40], based on the conversion efficiency value of the gross energy intake (GEI) of the CH<sub>4</sub> (Equation (3)).

$$\text{Y}_m \text{ (\%)} = \text{GEI (MJ/kg DM/day)} / \text{CH}_4 \text{ (g/day)} \quad (3)$$

#### 2.8. Prediction Equation Models

##### 2.8.1. Database

A database of 97 observations (including our study) was used to assess the performance of the models predicting the CH<sub>4</sub> emissions from ruminants. This database (Table A1, Appendix A) included 29 studies from 9 countries in 3 different continents. Studies from the Americas accounted for 80 of the observations from 24 of the studies, with Brazil being

the main contributor. Europe accounted for 15 of the observations from 4 of the studies, and Asia accounted for 2 of the observations from 1 study. The enteric CH<sub>4</sub> emissions that were included in this database were measured using respiration chambers (8/97, 8%), the SF<sub>6</sub> tracer technique (75/97, 77%), and emission monitoring chambers (GreenFeed™, C-Lock Inc., Rapid City, SD, USA; 14/97, 15%). They were classified into two different production and measurement conditions: in confinement (20/97, 20%) and grazing (55/97, 80%).

### 2.8.2. Data Pre-Processing

Data pre-processing was performed, as the collected data were sometimes incomplete (with missing values or variables of interest) or inconsistent (with different names or units for the same variable). The inconsistent data were corrected by using the same names and units across the studies. Some of the data on the gross energy content and the variables of the chemical composition that were not available were simulated using NRC 2016 software [41] to obtain them. The ranges of the variables that were chosen to be evaluated in the models were NDF (34–78%), forage (61–100%), GE (11.3–21.8 MJ/kg DM), digestibility (35–84%), body weight (233–712 kg), DMI (4.2–25.2 kg/day), and CH<sub>4</sub> emissions (80–656 g/day).

### 2.8.3. Selection Model

The CH<sub>4</sub> emission estimation models that were chosen for this study were extracted from the work of Escobar-Bahamondes et al. [27] and Benauda et al. [30], based on forage diets and including the fiber variables in the equations (Table 2). Only the models with predictor variables or required information that were available in our database and experiment were selected. The IPCC 2006 tier 2 model [40] was chosen because it is frequently used in national inventories and scientific reports. The Ellis 2007 (a,b,c) models are described in [25], and the Moraes 2014 (H\_AL) and (DL) models are described in [29]. The selected models are presented in the following table:

**Table 2.** List of authors, models, equations and references to estimate CH<sub>4</sub> emissions evaluated in this study.

Author, Year	Model	Equation	Reference
IPCC, 2006	IPCC 2006	$CH_4 = (0.065 \times GEI)/0.05565$	[40]
Ellis et al., 2007	Ellis 2007 (a)	$CH_4 = (3.14 + 2.11 \times NDFI)/0.05565$	[25]
Ellis et al., 2007	Ellis 2007 (b)	$CH_4 = (5.58 + 0.848 \times NDFI)/0.05565$	[25]
Ellis et al., 2007	Ellis 2007 (c)	$CH_4 = (-1.02 + 0.681 \times DMI + 4.81 \times \text{forage})/0.05565$	[25]
Moraes et al., 2014	Moraes 2014 (H_AL)	$CH_4 = -1.487 + 0.046 \times GEI + 0.032 \times (NDF, \%) + 0.006 \times BW$	[29]
Moraes et al., 2014	Moraes 2014(DL)	$CH_4 = -0.163 + 0.051 \times GEI + 0.038 \times (NDF, \%)$	[29]

CH<sub>4</sub>: enteric methane (g/day); GEI: gross energy intake (MJ/day); NDFI: neutral detergent fiber intake (kg/day); DMI: Dry matter intake (kg/day); forage: forage proportion in the diet (%); NDF: neutral detergent fiber (%); and BW: body weight (kg).

### 2.9. Statistical Analysis

All the animal and emission data were analyzed using Infostat 2020 software [42]. The normality test (Shapiro–Wilks test) was applied to all the variables. The model that was obtained was the following mixed model,  $Y_{ijk} = u + T_i + P_j + B_k + e_{ijk}$ , where Y is the dependent variable; u is the overall mean; T (i = moderate or high fiber) is the treatment effect, P (j = 1–3) is the pen effect, both as fixed effects; B (k = 1–12) corresponds to the block effect as a random effect; and e is the associated error. The means were compared with Fisher's LSD test. The significance was declared as  $p \leq 0.05$ , and trends were considered when  $p > 0.05$  and  $p < 0.10$ .

The linear regression and Pearson's correlation coefficients ( $r^2$ ) were calculated using R software (version 4.1.1) (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) [43] to examine the relationship between the variables of the dry matter intake, NDF intake,

and CH<sub>4</sub> emissions. The significance was declared as  $p < 0.05$ , and trends were considered when  $p > 0.05$  and  $< 0.10$ .

For the analysis of the observed versus predicted emission models, the conclusions that were presented in Piñeiro et al. [44] were taken into account. R software (version 4.1.1) [43] with the “*metric*” and “*biod3d*” packages was used, evaluating the linear regression, with Pearson’s coefficient ( $r^2$ ), root mean square error (RMSE), and deviation (RMSD) being used as the parameters for determining the effectiveness of the models at estimating the emissions of the CH<sub>4</sub>.

### 3. Results

#### 3.1. Intake and Digestibility

The feed intake that was recorded for both groups of steers ranged from 1.8% to 2.25% of the BW (Table 3). The total DMI was higher for the MF diet compared with the HF diet ( $p < 0.05$ ). For most components, except for ADF, the intake was higher in the MF than the HF diet ( $p < 0.05$ ). In addition, the apparent digestibility (DMD), as well as the NDF digestibility (NDFD), was higher by ten percentage points when comparing the MF diet with the HF diet ( $p < 0.05$ ).

**Table 3.** Intake of nutritional components, apparent digestibility, and NDF of steers fed forage diets with moderate fiber content (MF) and high fiber content (HF).

Parameter	Diet		SEM	p-Value
	Moderate Fiber (MF)	High Fiber (HF)		
DM, kg/day	9.9	8.2	0.23	<0.001
OM, kg/day	7.5	6.2	0.17	0.001
NDF, kg/day	4.9	4.5	0.12	0.02
ADF, kg/day	3.3	3.2	0.08	0.49
Lignin, kg/day	0.74	0.67	0.02	0.02
CP, kg/day	1.5	1.0	0.03	<0.001
EE, kg/day	0.28	0.20	0.01	<0.001
Ash, kg/day	1.2	1.0	0.03	<0.001
DMD, %	60.7	50.4	1.02	<0.001
NDFD, %	56.6	47.6	1.4	<0.001

DM: dry matter; OM: organic matter; NDF: neutral detergent fiber; ADF: acid detergent fiber; CP: crude protein; EE: ether extract; DMD: dry matter digestibility; and NDFD: neutral detergent fiber digestibility.

#### 3.2. Animal Performance

At the end of the experimental period, the average live weight was different between the two treatments (Table 4). It was observed that animals fed the MF diet weighed on average 41 kg of LW more than animals fed the HF diet ( $p < 0.05$ ). Likewise, this difference is reflected in the difference that was presented in the average daily gain (ADG), which was twice as high in the MF group than in the HF group ( $p < 0.05$ ).

**Table 4.** Productive and methane emission variables of steers fed forage diets with moderate fiber content (MF) and higher fiber content (HF).

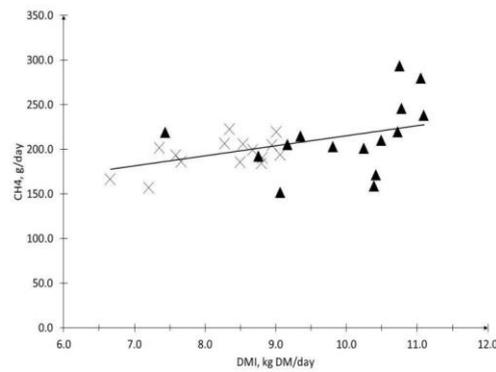
Parameter	Diet		SEM	p-Value
	Moderate Fiber (MF)	High Fiber (HF)		
Production				
Initial LW, kg	447	441	9.02	0.62
Final LW, kg	513	472	8.75	0.002
ADG, kg/day	0.65	0.32	0.02	<0.001
Emission				
CH <sub>4</sub> , g/day	214	193	7.56	0.054
CH <sub>4</sub> , g/kg ADG	342	649	48.7	<0.001
CH <sub>4</sub> , g/kg DMI	21.7	23.7	0.64	0.022
CH <sub>4</sub> , g/kg NDF intake	44.09	43.77	1.27	0.97
Ym, %	6.7	7.5	0.2	0.008

LW: live weight; ADG: average daily gain; DMI: dry matter intake; and Ym: methane yield.

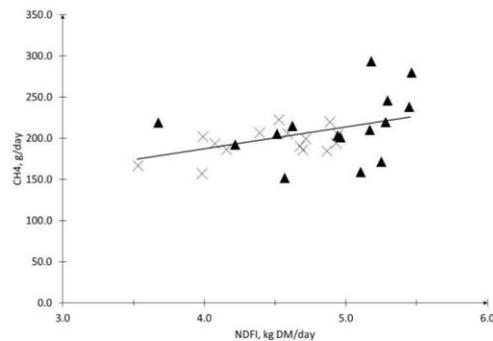
### 3.3. Methane Emissions

The absolute enteric methane emissions (g CH<sub>4</sub>/day) did not show significant differences ( $p > 0.05$ ) (Table 4). The methane emission intensity per kilogram of the dry matter intake (g CH<sub>4</sub>/kg DMI) was lower under the MF diet compared with the HF diet ( $p < 0.05$ ). However, this difference was not present in the emission intensity that was evaluated per kg of the NDF consumed ( $p > 0.05$ ). In the same sense, the emission intensity of the MF diet, which was expressed in relation to the average daily gain (g CH<sub>4</sub>/kg ADG), was almost half that of the HF diet ( $p < 0.05$ ). Moreover, the methane conversion rate (Y<sub>m</sub>) was lower under the MF diet than under the HF diet ( $p < 0.05$ ).

A linear regression analysis for the DMI variable and the absolute methane emissions (g/day), including all the observations that were obtained from our experiment, can be seen in Figure 1. A correlation value of  $r^2 = 0.51$  ( $p = 0.0043$ ) was obtained. On the other hand, a linear regression analysis for the variables of the FDN intake and the absolute methane emissions (g CH<sub>4</sub>/day) showed a correlation value of  $r^2 = 0.45$  ( $p = 0.013$ ), as can be seen in Figure 2.



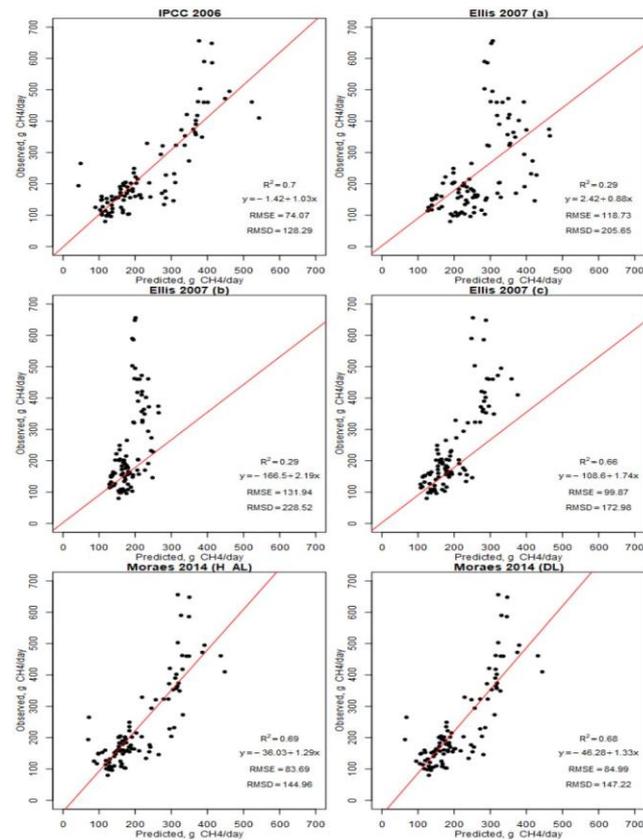
**Figure 1.** The relationship between dry matter intake (DMI) and CH<sub>4</sub> production of steers fed moderate-fiber (MF, black triangle) and high-fiber (HF, cross) diets.  $r^2 = 0.51$ ,  $p = 0.0043$ , and  $Y = 12.79x + 87.53$ .



**Figure 2.** The relationship between neutral detergent fiber intake (NDFI) and CH<sub>4</sub> production of steers fed moderate-fiber (MF, black triangle) and high-fiber (HF, cross) diets.  $r^2 = 0.45$ ,  $p = 0.013$ , and  $Y = 27.52x + 74.89$ .

### 3.4. Models' Equations Evaluated

The six models that were selected and evaluated are presented in the observation versus prediction plots (Figure 3). The averages of the variables that were used in the evaluation of the equations were: NDF (50.5%), forage inclusion (91.8%), GE (17.63 MJ/kg DM), DMD (64.8%), BW (426 kg), DMI (11.18 kg DM/day), NDF intake (5.5 kg DM/day), and GEI (196.7 MJ/day). The mean of the observed emissions was 236 g CH<sub>4</sub>/day, while the means of the emissions of the prediction equations that were evaluated were: IPCC 2006 = 229 g CH<sub>4</sub>/day, Ellis 2007 = a, 265 g CH<sub>4</sub>/day, Ellis 2007 = b, 184 g CH<sub>4</sub>/day, Ellis 2007 = c, 197 g CH<sub>4</sub>/day, Moraes 2004 H-AL = 210 g CH<sub>4</sub>/day, and Moraes 2004 DL = 211 g CH<sub>4</sub>/day. The IPCC 2006 model obtained a lower RMSE (74.07 g CH<sub>4</sub>) and RSMD (128.29 g CH<sub>4</sub>). The best correlation was that of the IPCC 2006 model ( $r^2 = 0.70$ ,  $p < 0.001$ ). The models with the lowest correlation were Ellis 2007 (a), and Ellis 2007 (b), with  $r^2 = 0.28$  for both. Ellis 2007 (a) and Ellis 2007 (b) presented the highest RMSE values of 118 and 131 g CH<sub>4</sub>, respectively.



**Figure 3.** Observed vs. predicted CH<sub>4</sub> emissions value plots using 97 observations (black points) from 29 different studies in the six models selected. Regression lines are shown in red. RMSE: Root means square error; RMSD: Root means square deviation; and  $r^2$ : Pearson's coefficient.

#### 4. Discussion

The present study explored how the manipulation of the fiber content (NDF) in a forage diet can affect its CH<sub>4</sub> emissions and animal performance. The study focused on evaluating forage diets with high and moderate fiber contents (>, <50% NDF).

The chemical composition showed similarities with forages at a medium stage of maturity that are found in temperate climate zones (Table 1). Forage diets are characterized by a high proportion of structural carbohydrates in their composition [45]. As expected, the addition of fiber (+5% NDF, 52 g/kg DM) led to an increase in the fiber content of the diet, and consequently, a decrease in the other components (CP, EE) and in the non-structural/structural carbohydrate ratio in the HF diet. This ratio is used to define diet quality [46], and for this reason, we can define the MF diet as being of a better quality than the HF diet in terms of fiber.

The dry matter intakes (DMI) presented in Table 3 are similar to those reported for the same animal category fed forage-based diets [47]. The higher intakes that were observed from the animals consuming the MF diet (+20%) caused more of the chemical components of the diet to be ingested, when compared with the HF diet. Likewise, although the MF diet contained less NDF per kg of the DM than the HF diet, 0.49 vs. 0.54, respectively, the intake of this component by the animals was higher in the MF diet than in the HF diet. Regarding the ADF intake, similar results are presented between both the diets; however, the lower ADF content in the MF diet allowed the animals to obtain a higher intake of the DM, making it possible to observe the regulating effect of the ADF on the intake [48]. The intake of forage diets is mainly regulated by the rumen's filling and distension, so that a higher amount of fiber content would result in a lower rate of degradation and less passage of feed through the rumen [45,49,50], thus causing a decrease in the intake in the animals that consumed the HF diet.

On the other hand, there were differences in the digestibility between both of the diets. The digestibility was 17% higher for the dry matter and 19% higher for the fiber in the MF diet compared with the HF diet (Table 3). These differences in the digestibility may lead to differences in the intake [51,52]. Assuming a linear relation between the marginal increase in the NDF digestibility and animal responses, Oba and Allen [53] proposed that, for each point decrease in the NDF digestibility, the intake decreased by 0.17 kg DM/day, which is very similar to the results of our study, with 0.19 kg DM/day. An increase in the retention times of the liquid phase of the feed in the rumen, and therefore a lower digestibility, led to a decrease in the animal intake [54]. Thus, Van Soest [45] proposed that the forage intake decreases when the digestibility is lower, and that this is related to the ratio between the soluble and structural carbohydrates (NFC:NDF) and lignin content. In our results, the NFC:NDF ratio was 0.43 vs. 0.35, and the lignin was 74 vs. 82 g/kg DM for the MF and HF groups, respectively. However, other studies have shown opposite results, as presented by Hammond et al. [55], where chopped barley straw and soybean hulls were added as fiber (+5% NDF) to a forage-based diet (corn or grass silage); however, this addition did not cause differences in the animal intake.

Another important point that could have affected the difference in the NDFD, DMD, and consequently, the intake (DMI), could be the levels of the crude protein intake, which was 0.5 kg DM/day higher for the MF diet than the HF diet (Table 3). Fiber degradability is strongly conditioned by the levels of ammonia (N-NH<sub>3</sub>) that are available in the rumen [56]. The microorganisms that are responsible for fiber degradation, especially cellulolytic microorganisms, require adequate levels of NH<sub>3</sub> (endogenous or exogenous) and energy to act, which can affect the digestibility and intake of a forage diet [56]. Olson et al. [57] experimented with steers to evaluate the effects of two supplements at different proportions of starch and a degradable protein intake on the forage utilization and rumen function in a low-quality diet (tallgrass hay, 4.5% CP and 72% NDF). Their results showed a linear increase in the intake when the protein supplementation was increased ( $p < 0.01$ ).

For the production variables (Table 4), the first aspect to highlight is the difference in the average live weights (LW) at the end of the period. Likewise, this difference is reflected

in the difference that was presented in the average daily gain, this being two times higher in favor of the MF group. These differences have a strong economic productive implication, with possible negative effects in terms of the weights of the hot carcass [24,58], time, and a delay in the finishing phase of the HF animals. This delay, in turn, has environmental consequences, as the longer the animal has not reached its productive objective (slaughter), the greater its contribution to the emission of GHGs into the environment [59].

The absolute methane emissions (g CH<sub>4</sub>/day) showed no differences when comparing the steers that were consuming the forage diets with contrasting fiber contents (Table 4). In recent years, studies have been carried out comparing the effects of forage diets with different NDF contents on CH<sub>4</sub> emissions. Primavesi et al. [17] compared the CH<sub>4</sub> emissions from grazing animals that were supplemented with two sugarcane varieties with contrasting NDF values, reporting that the use of the variety with a lower proportion of NDF reduced the CH<sub>4</sub> emissions by 30%, relative to the diet with a higher NDF content. Aguerre et al. [60], on the other hand, determined the effect of feeding diets with different forage-to-concentrate ratios (F:C), resulting in a positive correlation between the amount of NDF and the enteric CH<sub>4</sub> emissions. In these terms, a diet with differences in its NDF contents should show a difference in its enteric methane production; however, this difference was not demonstrated in our study, although there is a positive correlation between the NDF intake and CH<sub>4</sub> emissions (Figure 2). Nevertheless, there are other studies that did not find differences in the emissions of CH<sub>4</sub>, despite comparing diets of very contrasting qualities. This is the case in the work that was presented by Dini et al. [61], which compared the effect of low- and high-quality pasture under grazing conditions in two seasons (winter-spring); however, no differences in the emissions were observed, despite the difference in qualities; 70% vs. 42% NDF in the winter and 55% vs. 41% NDF in the spring, for low and high quality, respectively.

It appears that the NDF content of a diet alone does not explain its enteric methane (CH<sub>4</sub>) emissions. Different studies have shown that a higher amount of forage intake causes an increase in the fermentation processes in the rumen, and therefore presents a higher CH<sub>4</sub> emission rate (g/d) [62–66]. Boadi and Wittenberg [21] proposed that consumption predicts 64% of the variations in daily emissions. This is related to the results of our work, as the higher consumption presented by the MF group of steers could influence their emissions, which would show that a diet with a lower percentage of NDF emissions would not be different (Table 4). This is shown in Figures 1 and 2, where a correlation of the CH<sub>4</sub> emissions is shown with both the DMI and NDF intake, with *r*<sup>2</sup> values of 0.51 and 0.45, respectively. Similar results were presented by Pinares-Patiño et al. [64] and Beauchemin and McGinn [50]. The latter reported a correlation of 0.82 between the DMI and methane emissions, while Pinares-Patiño et al. [64] reported correlation values for the absolute methane emissions, with a DMI of 0.53 and 0.42 with NDFI. Likewise, Alemu et al. [67] performed these regressions on accurate intake and emission measurement techniques, such as GreenFeed (GEM) and respiration chamber (RC). For both techniques, the increment values per kg of the DMI, of 12.3 g (+6%) and 15.2 g (+8.2%) of CH<sub>4</sub>, were presented for GEM and RC, respectively, which was very similar to that which was presented in our study, of 12.8 g CH<sub>4</sub> (+6.7%). However, Alemu et al. [67] presented correlations of only 0.19 and 0.28 for GEM and RC, respectively. On the other hand, Kurihara et al. [62] reported higher correlation values (0.99) and also reported a positive linear regression, but with an increase of 41 g of CH<sub>4</sub> per kg of the DM that was ingested (+14%). It is interesting to observe the behavior of these relationships with their respective diets, as they are apparently dependent on the scenario in which they are evaluated, and may be important when developing emission factors and different mitigation strategies [6].

Dall-Orsoletta et al. [68] compared the methane (CH<sub>4</sub>) emissions from dairy cows that were consuming diets with the same NDF content (TMR vs. PMR). A higher intake of NDF (6.6 vs. 6 kg/day, respectively) implied higher emissions (656 vs. 546 g CH<sub>4</sub>/day), even though both diets had a similar digestibility. However, others have pointed out that increasing the digestibility of the diet would reduce the CH<sub>4</sub> emissions [52,69]. A high rate

of fluid passage can reduce archaeal populations, leading to an accumulation of H<sub>2</sub> and a reduction in CH<sub>4</sub> emissions, because of the feedback inhibition of the H<sub>2</sub> production [69,70]. The CH<sub>4</sub> emissions should be analyzed, while taking into consideration both the intake and the quality of the feed that was supplied [71].

Different studies have indicated that the best way to evaluate methane (CH<sub>4</sub>) emissions is through intensity, especially in relation to intake [72]. In terms of the emission intensity per DMI, the MF group was lower than the HF group (Table 4). With an increasing feeding level, due to a good digestibility and high intake, there would be a higher efficiency of energy consumed, and thus, a lower CH<sub>4</sub> production relative to the intake [20,61,73,74]. Different results of g CH<sub>4</sub>/kg DMI have been reported. Andrade et al. [75] reported values between 22.9 and 25.4 g, Dini et al. [37] reported values between 21.6 and 22.7 g, and Dini et al. [61] reported values between 17.9 and 20.2 g, which are all intensities that are within the ranges that were found in this study (15.3 to 29.5 g CH<sub>4</sub>/kg DMI). However, Gere et al. [76] reported DMI values between 11.8 and 12.1 g CH<sub>4</sub>/kg, which are well below those that were presented in this work, and is probably due to the higher consumption that was presented in that study. In turn, the emission intensity per kg of the NDF that was ingested did not show significant differences ( $p > 0.05$ ), most likely due to the low difference in the NDF content between the two diets (5%), and therefore, the intake of this component [3]. On the other hand, the emission intensity of the MF animals, which was expressed in relation to the average daily gain (g CH<sub>4</sub>/kg ADG), was almost half that of the HF group ( $p < 0.05$ ). This is much higher than that which was reported by Maciel et al. [5], where the grazing intensity of Nellore and Angus steers was evaluated, which presented with similar ADG values (with a mean ADG intensity value of 129.5 g CH<sub>4</sub>/kg). This can be explained by the worse feed conversion that was presented in our study, which was, on average, 18.1, much higher than the 8.8 average that was presented by Maciel et al. [5], which is possibly due to the supplementation that these animals received.

Methane (CH<sub>4</sub>) production is considered to be an energy loss [16]. The Y<sub>m</sub> value that was obtained for each of the forage diets that were evaluated (Table 4) confirmed that their quality, which was defined according to the NDF content, can generate major differences in feed use efficiency, and therefore CH<sub>4</sub> emissions. In this experiment, the MF group presented a Y<sub>m</sub> value of 6.7%, a figure that was close to the 6.5%  $\pm$  1% that was proposed by the IPCC for animals that are fed forage-based diets. On the other hand, the Y<sub>m</sub> value that was obtained in the HF diet group (7.5%) is more in line with that which was proposed by the IPCC [40] for animals that are fed low-quality forage diets. Previous studies in Uruguay have determined different Y<sub>m</sub> values; for grazing dairy cattle of 6.6% [37], while for beef steers in relation to their residual intake (RFI), it was 6.7% for low RFI animals and 9.17% for high RFI animals [77]. Comparing pastures of different quality, Dini et al. [61] reported values of 4.2% to 7.9% for the winter and spring periods, respectively. Studies conducted in Argentina on pasture-fed beef cattle have shown variable values of 4.3% to 8.2% [76].

The analysis of the observed vs. predicted methane (CH<sub>4</sub>) emissions is presented in Figure 3. This analysis allowed for the evaluation of the prediction equations that have been proposed by different works for diets with a high inclusion of forage resources (>60%). The equation that presented the best performance was that of the IPCC 2006 Guidelines, followed by Moraes 2004 (a). Both equations have in common the use of gross energy intake as a component; however, only the second one also included the NDF and BW as components. Escobar-Bahamondes et al. [27] used a high-forage dataset to determine the best fit equations, whereas the International Panel on Climate Change Tier 2 method is presented as the best performing, with an  $r^2 = 0.71$  and RMSE of 39.8 g CH<sub>4</sub>/day, which has very similar accuracy but more precision when compared with our study ( $r^2 = 0.7$  and RMSE of 128 g CH<sub>4</sub>/day). The relatively good performance of the IPCC [40] equation for the high forage diets may reflect that the Y<sub>m</sub> that was used (6.5%) is from a wide range of diets, with a high proportion of forage. However, Ellis et al. [26] demonstrated that the accuracy of the IPCC (2006) Tier 2 methodology is low, and therefore, when used at the

farm scale, this approach could lead to an inaccurate estimate of the CH<sub>4</sub> released. This is probably because the datasets that were used in these papers did not consider the idea of separating by feed type and forage proportion [27]. When used for the cattle that were fed high grain diets, the existing CH<sub>4</sub> prediction models were generally inaccurate and lacked precision. In the work presented by Benauda et al. [30], the IPCC model performed moderately well, because it did not take into account the differences in dietary lipids, NDF and starch contents, and diet quality effects. In this same work, the author pointed out a particularly important point, which is that the uncertainties and discrepancies that are associated with CH<sub>4</sub> measurement techniques were expressed as coefficients of variation (CV), which can range from 20 to 27%, depending on which emission variable is considered. In the same vein, Benchaar et al. [63] stated that the accuracy of the models depends on the assumptions of the model, as well as on the accuracy of the input values that are needed to use the model.

Within this analysis, emphasis was placed upon the studies that were mainly conducted in the Americas, principally in South America (58 observations and 18 studies), which showed different results when comparing diets of different qualities and the methane emissions in absolute terms (g CH<sub>4</sub>/day). For example, in Uruguay, Dini et al. [61] and Oscarberro et al. [78] reported grazing average emission values of 109–177 g CH<sub>4</sub>/day and 140–329 g CH<sub>4</sub>/day for heifers, respectively. For grazing lactating cows, Loza et al. [79] reported values between 353 and 374 g CH<sub>4</sub>/day, while in Argentina, for the same animal category and grazing system, Gere et al. [76] reported values from 157 to 203 g CH<sub>4</sub>/day. Studies in Brazil, for example, those by Maciel et al. [5], Oliveira et al. [4], and Hoffman et al. [80], which measured heifers and steers with forage diets, showed results with a wider range of 80–184 g CH<sub>4</sub>/day. All are very similar values to the ranges that were presented in our study (151 and 293 g CH<sub>4</sub>/day), despite being in different categories but using the same forage diets.

It should be noted that many of these studies and measurements were performed on different categories of animals and under different grazing conditions, a factor to consider since our study was performed on housed steers that did not harvest their own feed. Undoubtedly, the measurement of the feed intake of pasture-raised animals is still costly and of a low precision [4,22,23]. This, combined with the errors that are associated with enteric methane production measurement techniques [81,82], can lead us to erroneous conclusions. For this reason, this study, through the confinement of the animals, allowed us to evaluate the effects of a forage diet by controlling the quality and quantity of the diet that was ingested by the animal.

## 5. Conclusions

Supplying a high-quality forage diet with a moderate fiber content not only showed important positive implications for the animal's performance, but also in the environmental sustainability of the system. This improvement in productivity was also accompanied by a lower intensity of the enteric CH<sub>4</sub> emissions that were expressed per kg DM intake, per kg of ADG, and per unit of GEI converted into CH<sub>4</sub> (Ym). When comparing the estimation values of the model equations versus the observed emission values of the diets with a high forage inclusion, despite its relative simplicity, the performance of the IPCC Tier 2 equation is the best, when compared to other, more complex equations that consider diet composition.

**Author Contributions:** Conceptualization, J.C., D.S., G.B. and V.S.C.; methodology, D.S., J.C., C.S.Z., J.M., J.G. and V.S.C.; formal analysis, D.S., J.C. and V.S.C.; investigation, D.S., J.C. and V.S.C.; writing—original draft preparation, D.S. and J.C.; writing—review and editing, J.C., G.B., F.A., C.S.Z. and V.S.C.; supervision, G.B. and V.S.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** The animal study protocol was approved by the Committee for the Ethical Use of Animals at the National Institute of Agricultural Research (INIA-Uruguay), (Protocol number 2020-5).

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** The data presented in this study are available in the article. Further information is available upon request from the corresponding author.

**Acknowledgments:** This work is part of a master's scholarship provided by the National Institute of Agricultural Research, INIA. The authors gratefully acknowledge technical support from the Laboratory of Nutrition of INIA-La Estanzuela.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## Appendix A

**Table A1.** Database of studies used for observed vs. predicted analyses.

Author, Year	Country	Measurement Technique	System	Reference
Gere et al., 2019	Argentina	SF <sub>6</sub>	Grazing	[76]
Maciel et al., 2019	Brazil	SF <sub>6</sub>	Grazing	[5]
Oliveira et al., 2016	Brazil	SF <sub>6</sub>	Grazing	[4]
Cota et al., 2014	Brazil	SF <sub>6</sub>	Confinement/Grazing	[3]
Batalha et al., 2020	Brazil	SF <sub>6</sub>	Confinement	[83]
Hoffmann et al., 2021	Brazil	SF <sub>6</sub>	Grazing	[80]
Dall-Orsoletta et al., 2016	Brazil	SF <sub>6</sub>	Confinement/Grazing	[68]
Koscheck et al., 2020	Brazil	SF <sub>6</sub>	Grazing	[84]
Teobaldo et al., 2022	Brazil	SF <sub>6</sub>	Grazing	[85]
Silvestre et al., 2021	Brazil	SF <sub>6</sub>	Confinement	[86]
Beauchemin and McGinn, 2006	Canada	Respiration chamber	Confinement	[50]
Alemu et al., 2017	Canada	Respiration chamber	Confinement	[67]
Manafiazar et al., 2016	Canada	GEM	Confinement	[87]
Boadi and Wittenberg, 2002	Canada	SF <sub>6</sub>	Confinement	[21]
McCaughy et al., 1997	Canada	SF <sub>6</sub>	Grazing	[73]
Muñoz et al., 2015	Chile	SF <sub>6</sub>	Grazing	[88]
Muñoz et al., 2016	Chile	SF <sub>6</sub>	Grazing	[89]
Pinares-Patiño et al., 2003	France	SF <sub>6</sub>	Grazing	[64]
Doreau et al., 2011	France	SF <sub>6</sub>	Confinement	[90]
Jonker et al., 2018	New Zealand	GEM	Grazing	[66]
Hammond et al., 2016	UK	GEM	Confinement	[55]
Richmond et al., 2015	UK	SF <sub>6</sub>	Grazing	[71]
Santander et al., 2023	Uruguay	SF <sub>6</sub>	Confinement	[This study]
Dini et al., 2019	Uruguay	SF <sub>6</sub>	Confinement	[77]
Dini et al., 2018	Uruguay	SF <sub>6</sub>	Grazing	[61]
Orcasberro et al., 2021	Uruguay	SF <sub>6</sub>	Grazing	[78]
Loza et al., 2021	Uruguay	SF <sub>6</sub>	Grazing	[79]
Dini et al., 2012	Uruguay	SF <sub>6</sub>	Grazing	[37]
Aguerre et al., 2011	USA	Respiration chamber	Confinement	[60]

GEM: emission monitoring chamber GreenFeed™.

## References

- Garnett, T.; Godde, C.; Muller, A.; Röös, E.; Smith, P.; De Boer, I.; Ermgassen, E.; Herrero, M.; Van Middelaar, C.; Schader, C.; et al. *Grazed and Confused? Ruminating on Cattle, Grazing Systems, Methane, Nitrous Oxide, the Soil Carbon Sequestration Question—And What It All Means for Greenhouse Gas Emissions*; FCRN: Oxford, UK, 2017.
- MVOTMA (Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente). *Uruguay: Tercer Informe Bienal de Actualización a la Conferencia de las Partes en la Convención Marco de las Naciones Unidas Sobre el Cambio Climático*; MVOTMA: Santiago, Chile, 2019. Available online: [https://www.gub.uy/ministerio-ambiente/sites/ministerio-ambiente/files/documentos/noticias/20191231\\_URUGUAY\\_BUR3\\_ESP\\_1.pdf](https://www.gub.uy/ministerio-ambiente/sites/ministerio-ambiente/files/documentos/noticias/20191231_URUGUAY_BUR3_ESP_1.pdf) (accessed on 14 October 2022).
- Cota, O.L.; de Figueiredo, D.M.; Branco, R.H.; Magnani, E.; do Nascimento, C.F.; de Oliveira, L.F.; Mercadante, M.E.Z. Methane emission by Nellore cattle subjected to different nutritional plans. *Trop. Anim. Health Prod.* **2014**, *46*, 1229–1234. [CrossRef]

4. Oliveira, L.F.; Ruggieri, A.C.; Branco, R.H.; Cota, O.L.; Canesin, R.C.; Costa, H.J.U.; Mercadante, M.E.Z. Feed efficiency and enteric methane production of Nellore cattle in the feedlot and on pasture. *Anim. Prod. Sci.* **2018**, *58*, 886–893. [CrossRef]
5. Maciel, I.C.d.F.; Barbosa, F.A.; Tomich, T.R.; Ribeiro, L.G.P.; Alvarenga, R.C.; Lopes, L.S.; Malacco, V.M.R.; Rowntree, J.E.; Thompson, L.R.; Lana, A.M.Q. Could the breed composition improve performance and change the enteric methane emissions from beef cattle in a tropical intensive production system? *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0220247. [CrossRef] [PubMed]
6. Beauchemin, K.A.; Ungerfeld, E.M.; Eckard, R.J.; Wang, M. Review: Fifty years of research on rumen methanogenesis: Lessons learned and future challenges for mitigation. *Animals* **2020**, *14*, s2–s16. [CrossRef]
7. Denman, K.L.; Brasseur, G.; Chidthaisong, A.; Ciais, P.; Cox, P.M.; Dickinson, R.E.; Hauglustaine, D.; Heinze, C.; Holland, E.; Jacob, D.; et al. Couplings Between Changes in the Climate System and Biogeochemistry. In *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*; Solomon, S., Qin, M.D., Manning, Z., Chen, M., Marquis, K.B., Averyt, M.T., Miller, H.L., Eds.; Cambridge University Press: Berkeley, CA, USA, 2007; pp. 499–587. Available online: <https://www.osti.gov/servlets/purl/934721> (accessed on 4 December 2022).
8. Broucek, J. Production of Methane Emissions from Ruminant Husbandry: A Review. *J. Environ. Prot.* **2014**, *5*, 1482–1493. [CrossRef]
9. Sejian, V.; Lal, R.; Lakritz, J.; Ezeji, T. Measurement and prediction of enteric methane emission. *Int. J. Biometeorol.* **2011**, *55*, 1–16. [CrossRef] [PubMed]
10. Bervejillo, J. *Anuario de OPYPA 2021: Comportamiento del Sector de la Carne Vacuna*; Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca: Sarandi del Yí, Uruguay, 2021. Available online: <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/comunicacion/publicaciones/anuario-opypa-2021/analisis-sectorial-cadenas-productivas/comportamiento> (accessed on 20 November 2022).
11. Mieres, J.M. *Guía para la Alimentación de Rumiantes*; Unidad de Agronegocios y Difusión del INIA: Montevideo, Uruguay, 2004; Volume 142, 81p. Available online: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/2887/1/111219240807141556.pdf> (accessed on 4 December 2022).
12. Phelan, P.; Moloney, A.P.; McGeough, E.J.; Humphreys, J.; Bertilsson, J.; O’Riordan, E.G.; O’Kiely, P. Forage Legumes for Grazing and Conserving in Ruminant Production Systems. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* **2015**, *34*, 281–326. [CrossRef]
13. Delevatti, L.M.; Cardoso, A.S.; Barbero, R.P.; Leite, R.G.; Romanzini, E.P.; Ruggieri, A.C.; Reis, R.A. Effect of nitrogen application rate on yield, forage quality, and animal performance in a tropical pasture. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 7596. [CrossRef]
14. Lee, M.A. A global comparison of the nutritive values of forage plants grown in contrasting environments. *J. Plant Res.* **2018**, *131*, 641–654. [CrossRef]
15. Moe, P.W.; Tyrrell, H.F. Methane Production in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* **1979**, *62*, 1583–1586. [CrossRef]
16. Johnson, K.A.; Johnson, D.E. Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* **1995**, *73*, 2483–2492. [CrossRef] [PubMed]
17. Primavesi, O.; Frighetto, R.T.S.; Pedreira, M.S.; Lima, M.A.; Berchielli, T.T.; Rodrigues, A.A. Low-fiber sugarcane to improve meat production with less methane emission in tropical dry season. In Proceedings of the 3rd International Methane And Nitrous Oxide Mitigation Conference, Beijing, China, 14–19 September 2003; pp. 185–189. Available online: <http://www.coalinfo.net.cn/coalbed/meeting/2203/papers/agriculture/AG066.pdf> (accessed on 20 November 2022).
18. Hammond, K.J.; Crompton, L.A.; Bannink, A.; Dijkstra, J.; Yáñez-Ruiz, D.R.; O’Kiely, P.; Kebreab, E.; Eugène, M.A.; Yu, Z.; Shingfield, K.J.; et al. Review of current in vivo measurement techniques for quantifying enteric methane emission from ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2016**, *219*, 13–30. [CrossRef]
19. Clark, H.; Kelliher, F.; Pinares-Patiño, C. Reducing CH<sub>4</sub> Emissions from Grazing Ruminants in New Zealand: Challenges and Opportunities. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* **2010**, *24*, 295–302. [CrossRef]
20. Hammond, K.J.; Hoskin, S.O.; Burke, J.L.; Waghorn, G.C.; Koolgaard, J.P.; Muetzel, S. Effects of feeding fresh white clover (*Trifolium repens*) or perennial ryegrass (*Lolium perenne*) on enteric methane emissions from sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2011**, *166–167*, 398–404. [CrossRef]
21. Boadi, D.A.; Wittenberg, K.M. Methane production from dairy and beef heifers fed forages differing in nutrient density using the sulphur hexafluoride (SF<sub>6</sub>) tracer gas technique. *Can. J. Anim. Sci.* **2002**, *82*, 201–206. [CrossRef]
22. Burns, J.C.; Pond, K.R.; Fisher, D.S. Measurement of forage intake. In *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*; Wiley: Hoboken, NJ, USA, 2015; pp. 494–532. [CrossRef]
23. Smith, W.B.; Galyean, M.L.; Kallenbach, R.L.; Greenwood, P.L.; Scholljegerdes, E.J. Understanding intake on pastures: How, why, and a way forward. *J. Anim. Sci.* **2021**, *99*, skab062. [CrossRef] [PubMed]
24. Sakamoto, L.S.; Souza, L.L.; Gianvecchio, S.B.; de Oliveira, M.H.V.; Silva, J.A.I.d.V.; Canesin, R.C.; Branco, R.H.; Baccan, M.; Berndt, A.; de Albuquerque, L.G.; et al. Phenotypic association among performance, feed efficiency and methane emission traits in Nellore cattle. *PLoS ONE* **2021**, *16*, e0257964. [CrossRef]
25. Ellis, J.L.; Kebreab, E.; Odongo, N.E.; McBride, B.W.; Okine, E.K.; France, J. Prediction of methane production from dairy and beef cattle. *J. Dairy Sci.* **2007**, *90*, 3456–3466. [CrossRef]
26. Ellis, J.L.; Bannink, A.; France, J.; Kebreab, E.; Dijkstra, J. Evaluation of enteric methane prediction equations for dairy cows used in whole farm models. *Glob. Change Biol.* **2010**, *16*, 3246–3256. [CrossRef]
27. Escobar-Bahamondes, P.; Oba, M.; Beauchemin, K.A. An evaluation of the accuracy and precision of methane prediction equations for beef cattle fed high-forage and high-grain diets. *Animals* **2016**, *11*, 68–77. [CrossRef]

28. Santiago-Juarez, B.; Moraes, L.E.; Appuhamy, J.A.D.R.N.; Pellikaan, W.F.; Casper, D.P.; Tricarico, J.; Kebreab, E. Prediction and evaluation of enteric methane emissions from lactating dairy cows using different levels of covariate information. *Anim. Prod. Sci.* **2016**, *56*, 557–564. [CrossRef]
29. Moraes, L.E.; Strathe, A.B.; Fadel, J.G.; Casper, D.P.; Kebreab, E. Prediction of enteric methane emissions from cattle. *Glob. Change Biol.* **2014**, *20*, 2140–2148. [CrossRef]
30. Benaouda, M.; Martin, C.; Li, X.; Kebreab, E.; Hristov, A.N.; Yu, Z.; Yáñez-Ruiz, D.R.; Reynolds, C.K.; Crompton, L.A.; Dijkstra, J.; et al. Evaluation of the performance of existing mathematical models predicting enteric methane emissions from ruminants: Animal categories and dietary mitigation strategies. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2019**, *255*, 114207. [CrossRef]
31. Association of Official Analytical Chemists, Inc. Official Method of Analysis. In *Chemical and Functional Properties of Food Saccharides*, 15th ed.; Helrich, K., Ed.; Association of Official Analytical Chemists, Inc.: Washington, DC, USA, 1990; Volume 1, pp. 73–80.
32. Van Soest, P.J.; Robertson, J.B.; Lewis, B.A. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J. Dairy Sci.* **1991**, *74*, 3583–3597. [CrossRef] [PubMed]
33. National Research Council. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th ed.; National Academies Press: Washington, DC, USA, 2001; 146p. [CrossRef]
34. Crews, J.H.; Carstens, G.E. Measuring Individual Feed Intake and Utilization in Growing Cattle. In *Feed Efficiency in the Beef Industry*; Wiley-Black: Hoboken, NJ, USA, 2012; pp. 21–28. [CrossRef]
35. Ferreira, M.d.A.; Valadares Filho, S.d.C.; Marcondes, M.I.; Paixão, M.L.; Paulino, M.F.; Valadares, R.F.D. Avaliação de indicadores em estúdios com ruminantes: Digestibilidade. *Rev. Bras. Zootec.* **2009**, *38*, 1568–1573. [CrossRef]
36. Gere, J.I.; Gratton, R. Simple, low-cost flow controllers for time averaged atmospheric sampling and other applications. *Lat. Am. Appl. Res.* **2010**, *40*, 377–381.
37. Dini, Y.; Gere, J.; Briano, C.; Manetti, M.; Juliarena, P.; Picasso, V.; Gratton, R.; Astigarraga, L. Methane emission and milk production of dairy cows grazing pastures rich in legumes or rich in grasses in Uruguay. *Animals* **2012**, *2*, 288–300. [CrossRef] [PubMed]
38. Pinares-Patiño, C.; Gere, J.; Williams, K.; Gratton, R.; Juliarena, P.; Molano, G.; MacLean, S.; Sandoval, E.; Taylor, G.; Koolaard, J. Extending the Collection Duration of Breath Samples for Enteric Methane Emission Estimation Using the SF6 Tracer Technique. *Animals* **2012**, *2*, 275–287. [CrossRef]
39. Savian, J.V.; Neto, A.B.; de David, D.B.; Bremm, C.; Schons, R.M.T.; Genro, T.C.M.; do Amaral, G.A.; Gere, J.; McManus, C.M.; Bayer, C.; et al. Grazing intensity and stocking methods on animal production and methane emission by grazing sheep: Implications for integrated crop–livestock system. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2014**, *190*, 112–119. [CrossRef]
40. IPCC. *2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Inventories—A Primer, Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme*; Eggleston, H.S., Miwa, K., Srivastava, N., Tanabe, K., Eds.; IGES: Hayama, Japan, 2006; p. 20.
41. National Research Council. Beef Cattle Nutrient Requirements Model. 2016. Available online: <https://nutritionmodels.com/beef.html> (accessed on 14 October 2022).
42. Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; RCW; InfoStat. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba: Argentina. 2020. Available online: <http://www.infostat.com.ar> (accessed on 14 October 2022).
43. R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2021. Available online: <https://www.r-project.org/> (accessed on 20 November 2022).
44. Piñeiro, G.; Perelman, S.; Guerschman, J.P.; Paruelo, J.M. How to evaluate models: Observed vs. predicted or predicted vs. observed? *Ecol. Modell.* **2008**, *216*, 316–322. [CrossRef]
45. Van Soest, P.J. *Nutritional Ecology of Ruminants*, 2nd ed.; Cornell University Press: Ithaca, NY, USA, 1994.
46. Van Soest, P.J. Symposium on Factors Influencing the Voluntary Intake of Herbage by Ruminants: Voluntary Intake in Relation to Chemical Composition and Digestibility. *J. Anim. Sci.* **1965**, *24*, 834–843. [CrossRef]
47. Zubieta, Á.S.; Savian, J.V.; de Souza Filho, W.; Wallau, M.O.; Gómez, A.M.; Bindelle, J.; Bonnet, O.J.F.; de Faccio Carvalho, P.C. Does grazing management provide opportunities to mitigate methane emissions by ruminants in pastoral ecosystems? *Sci. Total Environ.* **2021**, *754*, 142029. [CrossRef] [PubMed]
48. Riaz, M.Q.; Südekum, K.H.; Clauss, M.; Jayanegara, A. Voluntary feed intake and digestibility of four domestic ruminant species as influenced by dietary constituents: A meta-analysis. *Livest. Sci.* **2014**, *162*, 76–85. [CrossRef]
49. Minson, D.J.; Wilson, J.R. Prediction of Intake as an Element of Forage Quality. In *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*; Wiley: Hoboken, NJ, USA, 1994; pp. 533–563. [CrossRef]
50. Beauchemin, K.A.; McGinn, S.M. Enteric methane emissions from growing beef cattle as affected by diet and level of intake. *Can. J. Anim. Sci.* **2006**, *86*, 401–408. [CrossRef]
51. Hodgson, J. *Grazing Management: Science into Practice*; Longman Group UK Ltd.: Harlow, UK, 1990; 203p.
52. Beauchemin, K.A.; Kreuzer, M.; O'Mara, F.; McAllister, T.A. Nutritional management for enteric methane abatement: A review. *Aust. J. Exp. Agric.* **2008**, *48*, 21–27. [CrossRef]
53. Oba, M.; Allen, M.S. Evaluation of the Importance of the Digestibility of Neutral Detergent Fiber from Forage: Effects on Dry Matter Intake and Milk Yield of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* **1999**, *82*, 589–596. [CrossRef]
54. Hammond, K.J.; Pacheco, D.; Burke, J.L.L.; Koolaard, J.P.P.; Muetzel, S.; Waghorn, G.C.C. The effects of fresh forages and feed intake level on digesta kinetics and enteric methane emissions from sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2014**, *193*, 32–43. [CrossRef]

55. Hammond, K.J.; Jones, A.K.; Humphries, D.J.; Crompton, L.A.; Reynolds, C.K. Effects of diet forage source and neutral detergent fiber content on milk production of dairy cattle and methane emissions determined using GreenFeed and respiration chamber techniques. *J. Dairy Sci.* **2016**, *99*, 7904–7917. [\[CrossRef\]](#)
56. O'Connor, J.D.; Sniffen, C.J.; Fox, D.G.; Chalupa, W. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: IV. Predicting amino acid adequacy. *J. Anim. Sci.* **1993**, *71*, 1298–1311. [\[CrossRef\]](#)
57. Olson, K.C.; Cochran, R.C.; Jones, T.J.; Vanzant, E.S.; Titgemeyer, E.C.; Johnson, D.E. Effects of ruminal administration of supplemental degradable intake protein and starch on utilization of low-quality warm-season grass hay by beef steers. *J. Anim. Sci.* **1999**, *77*, 1016–1025. [\[CrossRef\]](#)
58. Bergen, R.; Miller, S.P.; Wilton, J.W. Genetic correlations among indicator traits for carcass composition measured in yearling beef bulls and finished feedlot steers. *Can. J. Anim. Sci.* **2005**, *85*, 463–473. [\[CrossRef\]](#)
59. Swain, M.; Blomqvist, L.; McNamara, J.; Ripple, W.J. Reducing the environmental impact of global diets. *Sci. Total Environ.* **2018**, *610–611*, 1207–1209. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
60. Aguerre, M.J.; Wattiaux, M.A.; Powell, J.M.; Broderick, G.A.; Arndt, C. Effect of forage-to-concentrate ratio in dairy cow diets on emission of methane, carbon dioxide, and ammonia, lactation performance, and manure excretion. *J. Dairy Sci.* **2011**, *94*, 3081–3093. [\[CrossRef\]](#)
61. Dini, Y.; Gere, J.L.; Cajarville, C.; Ciganda, V.S. Using highly nutritious pastures to mitigate enteric methane emissions from cattle grazing systems in South America. *Anim. Prod. Sci.* **2018**, *58*, 2329–2334. [\[CrossRef\]](#)
62. Kurihara, M.; Magner, T.; Hunter, R.A.; McCrabb, G.J. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. *Br. J. Nutr.* **1999**, *81*, 227–234. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
63. Benchaar, C.; Pomar, C.; Chiquette, J. Evaluation of dietary strategies to reduce methane production in ruminants: A modelling approach. *Can. J. Anim. Sci.* **2001**, *81*, 563–574. [\[CrossRef\]](#)
64. Pinares-Patiño, C.S.; Baumont, R.; Martin, C. Methane emissions by Charolais cows grazing a monospecific pasture of timothy at four stages of maturity. *Can. J. Anim. Sci.* **2003**, *83*, 769–777. [\[CrossRef\]](#)
65. Moorby, J.M.; Fleming, H.R.; Theobald, V.J.; Fraser, M.D. Can live weight be used as a proxy for enteric methane emissions from pasture-fed sheep? *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 17915. [\[CrossRef\]](#)
66. Jonker, A.; Farrell, L.; Scobie, D.; Dynes, R.; Edwards, G.; Hague, H.; McAuliffe, R.; Taylor, A.; Knight, T.; Waghorn, G. Methane and carbon dioxide emissions from lactating dairy cows grazing mature ryegrass/white clover or a diverse pasture comprising ryegrass, legumes and herbs. *Anim. Prod. Sci.* **2018**, *59*, 1063–1069. [\[CrossRef\]](#)
67. Alemu, A.W.; Vyas, D.; Manafiazar, G.; Basarab, J.A.; Beauchemin, K.A. Enteric methane emissions from low- and high-residual feed intake beef heifers measured using GreenFeed and respiration chamber techniques. *J. Anim. Sci.* **2017**, *95*, 3727–3737. [\[CrossRef\]](#)
68. Dall-Orsola, A.C.; Almeida, J.G.R.; Carvalho, P.C.F.; Savian, J.V.; Ribeiro-Filho, H.M.N. Ryegrass pasture combined with partial total mixed ration reduces enteric methane emissions and maintains the performance of dairy cows during mid to late lactation. *J. Dairy Sci.* **2016**, *99*, 4374–4383. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
69. Janssen, P.H. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2010**, *160*, 1–22. [\[CrossRef\]](#)
70. Moss, A.R.; Jouany, J.-P.; Newbold, J. Methane production by ruminants: Its contribution to global warming. *Ann. Zootech.* **2000**, *49*, 231–253. [\[CrossRef\]](#)
71. Richmond, A.S.; Wylie, A.R.G.; Laidlaw, A.S.; Lively, F.O. Methane emissions from beef cattle grazing on semi-natural upland and improved lowland grasslands. *Animals* **2015**, *9*, 130–137. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
72. Congio, G.F.d.S.; Bannink, A.; Mogollón, O.L.M.; Hristov, A.N.; Jaurena, G.; Gonda, H.; Gere, J.L.; Cerón-Cucchi, M.E.; Ortiz-Chura, A.; Tieri, M.P.; et al. Enteric methane mitigation strategies for ruminant livestock systems in the Latin America and Caribbean region: A meta-analysis. *J. Clean. Prod.* **2021**, *312*, 127693. [\[CrossRef\]](#)
73. McCaughey, W.P.; Wittenberg, K.; Corrigan, D. Methane production by steers on pasture. *Can. J. Anim. Sci.* **1997**, *77*, 519–524. [\[CrossRef\]](#)
74. Lee, J.M.; Woodward, S.L.; Waghorn, G.C.; Clark, D.A. Methane emissions by dairy cows fed increasing proportions of white clover (*Trifolium repens*) in pasture. *Proc. N. Z. Grassl. Assoc.* **2004**, *66*, 151–155. [\[CrossRef\]](#)
75. De Andrade, F.L.; Paulo, J.; Rodrigues, P.; Detmann, E.; De Campos, S.; Filho, V.; Messias, M.; Castro, D.; Trece, A.S.; Silva, T.E.; et al. Nutritional and productive performance of dairy cows fed corn silage or sugarcane silage with or without additives. *Trop. Anim. Health Prod.* **2016**, *48*, 747–753. [\[CrossRef\]](#)
76. Gere, J.L.; Bualó, R.A.; Perini, A.L.; Arias, R.D.; Ortega, F.M.; Wulff, A.E.; Berra, G. Methane emission factors for beef cows in Argentina: Effect of diet quality. *N. Z. J. Agric. Res.* **2019**, *64*, 260–268. [\[CrossRef\]](#)
77. Dini, Y.; Cajarville, C.; Gere, J.L.; Fernandez, S.; Fraga, M.; Pravia, M.I.; Navajas, E.A.; Ciganda, V.S. Association between residual feed intake and enteric methane emissions in Hereford steers. *Transl. Anim. Sci.* **2019**, *3*, 161–167. [\[CrossRef\]](#)
78. Orcasberro, M.S.; Loza, C.; Gere, J.; Soca, P.; Picasso, V.; Astigarraga, L. Seasonal Effect on Feed Intake and Methane Emissions of Cow-Calf Systems on Native Grassland with Variable Herbage Allowance. *Animals* **2021**, *11*, 882. [\[CrossRef\]](#)
79. Loza, C.; Gere, J.; Orcasberro, M.S.; Casal, A.; Carriquiry, M.; Juliarena, P.; Ramirez-Bribiesca, E.; Astigarraga, L. Intake, Energy Expenditure and Methane Emissions of Grazing Dairy Cows at Two Pre-Grazing Herbage Masses. *Open J. Anim. Sci.* **2021**, *11*, 440–457. [\[CrossRef\]](#)

80. Hoffmann, A.; Cardoso, A.S.; Fonseca, N.V.B.; Romanzini, E.P.; Siniscalchi, D.; Berndt, A.; Ruggieri, A.C.; Reis, R.A. Effects of supplementation with corn distillers' dried grains on animal performance, nitrogen balance, and enteric CH<sub>4</sub> emissions of young Nellore bulls fed a high-tropical forage diet. *Animals* **2021**, *15*, 100155. [[CrossRef](#)]
81. Williams, S.R.O.; Moate, P.J.; Hannah, M.C.; Ribaux, B.E.; Wales, W.J.; Eckard, R.J. Background matters with the SF<sub>6</sub> tracer method for estimating enteric methane emissions from dairy cows: A critical evaluation of the SF<sub>6</sub> procedure. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2011**, *170*, 265–276. [[CrossRef](#)]
82. Hammond, K.J.; Humphries, D.J.; Crompton, L.A.; Green, C.; Reynolds, C.K. Methane emissions from cattle: Estimates from short-term measurements using a GreenFeed system compared with measurements obtained using respiration chambers or sulphur hexafluoride tracer. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2015**, *203*, 41–52. [[CrossRef](#)]
83. Delveaux Araujo Batalha, C.; Morelli, M.; Branco, R.H.; dos Santos Gonçalves Cyrillo, J.N.; Carrilho Canesin, R.; Zerlotti Mercadante, M.E.; Figueiredo Martins Bonilha, S. Association between residual feed intake, digestion, ingestive behavior, enteric methane emission and nitrogen metabolism in Nellore beef cattle. *Anim. Sci. J.* **2020**, *91*, e13455. [[CrossRef](#)]
84. Koscheck, J.F.W.; Romanzini, E.P.; Barbero, R.P.; Delevatti, L.M.; Ferrari, A.C.; Mulliniks, J.T.; Mousquer, C.J.; Berchielli, T.T.; Reis, R.A. How do animal performance and methane emissions vary with forage management intensification and supplementation? *Anim. Prod. Sci.* **2020**, *60*, 1201–1209. [[CrossRef](#)]
85. Teobaldo, R.W.; Cardoso, A.d.S.; Brito, T.R.; Leite, R.G.; Romanzini, E.P.; Granja-Salcedo, Y.T.; Reis, R.A. Response of Phytogenic Additives on Enteric Methane Emissions and Animal Performance of Nellore Bulls Raised in Grassland. *Sustainability* **2022**, *14*, 9395. [[CrossRef](#)]
86. Silvestre, T.; Lima, M.A.; dos Santos, G.B.; Pereira, L.G.R.; Machado, F.S.; Tomich, T.R.; Campos, M.M.; Jonker, A.; Rodrigues, P.H.M.; Brandao, V.L.N.; et al. Effects of Feeding Level and Breed Composition on Intake, Digestibility, and Methane Emissions of Dairy Heifers. *Animals* **2021**, *11*, 586. [[CrossRef](#)]
87. Manafiazar, G.; Zimmerman, S.; Basarab, J. Repeatability and variability of short-term spot measurement of methane and carbon dioxide emissions from beef cattle using GreenFeed Emissions Monitoring System. *Can. J. Anim. Sci.* **2016**, *97*, 118–126. [[CrossRef](#)]
88. Muñoz, C.; Hube, S.; Morales, J.M.; Yan, T.; Ungerfeld, E.M. Effects of concentrate supplementation on enteric methane emissions and milk production of grazing dairy cows. *Livest. Sci.* **2015**, *175*, 37–46. [[CrossRef](#)]
89. Muñoz, C.; Letelier, P.A.; Ungerfeld, E.M.; Morales, J.M.; Hube, S.; Pérez-Prieto, L.A. Effects of pregrazing herbage mass in late spring on enteric methane emissions, dry matter intake, and milk production of dairy cows. *J. Dairy Sci.* **2016**, *99*, 7945–7955. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
90. Doreau, M.; van der Werf, H.M.G.; Micol, D.; Dubroeuq, H.; Agabriel, J.; Rochette, Y.; Martin, C. Enteric methane production and greenhouse gases balance of diets differing in concentrate in the fattening phase of a beef production system. *J. Anim. Sci.* **2011**, *89*, 2518–2528. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

**Disclaimer/Publisher's Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

### **3. DISCUSIÓN GENERAL**

Una de las estrategias para reducir las emisiones de metano (CH<sub>4</sub>) entérico se basa en el manejo de la dieta animal (Sejian et al., 2011). En este sentido, la medición del consumo es una herramienta fundamental para evaluar y obtener conclusiones sobre el efecto de la dieta en las emisiones, tanto por la cantidad ingerida como por su composición. Por este motivo, la posibilidad de registrar de manera precisa el consumo a través del uso de alimentadores automatizados jugó un rol clave en este estudio. Esto cobra aún más relevancia al evaluar dietas de base forrajera, ya que las mediciones en pastoreo presentan las dificultades propias de las metodologías de medición (Burns et al., 2015, Smith et al., 2021) y del comportamiento selectivo que pueden presentar los animales (Montossi et al., 2000).

Los consumos registrados por ambos grupos de novillos fueron entre 1,8 % a 2,25 % del PV, similar a los rangos de consumos reportados para animales bajo distintos sistemas de alimentación con base forrajera (Zubieta et al., 2021). Los resultados muestran una diferencia en los consumos presentados por cada grupo de animales (9,9 vs. 8,2 kg DMI), que estarían estrechamente relacionados con el contenido de fibra (% FDN) de la dieta (Van Soest, 1965). Menores contenidos de FDN reducen los tiempos de retención de la fase líquida del alimento en el rumen, lo que permite al animal aumentar su consumo (Hammond et al., 2014). Van Soest, (1994) sugiere que el consumo de forraje se incrementa cuando la digestibilidad es mayor, y esta, a su vez, tiene relación con la proporción de carbohidratos solubles sobre carbohidratos estructurales y el contenido de lignina. Ambos argumentos estarían relacionados con la diferencia de consumo presentado en este estudio, pues los animales que consumieron una dieta con mayor contenido de fibra y menor digestibilidad tuvieron su consumo significativamente más reducido ( $p < 0,05$ ).

Distintos trabajos publicados señalan que la digestibilidad de un alimento está correlacionada con la producción de metano (CH<sub>4</sub>) entérico (Beauchemin et al., 2008, Janssen, 2010), así como también existe una fuerte relación entre la producción de metano y la fibra consumida (Pinares-Patiño et al., 2003). Un alimento de mayor digestibilidad aumentará la tasa de pasaje de líquido, lo que reducirá las poblaciones de arqueas, lo que posteriormente llevaría a una acumulación de H<sub>2</sub> y a una reducción en la emisión de CH<sub>4</sub> como resultado de la inhibición por retroalimentación en la

producción de H<sub>2</sub> (Janssen, 2010, Moss et al., 2000). Por otro lado, un mayor contenido de fibra en el alimento aumentaría la fermentación y los tiempos de digestión de la fibra en el rumen, lo que incrementaría, en consecuencia, la producción de CH<sub>4</sub> (Pinares-Patiño et al., 2003).

Estos argumentos son respaldados por distintos resultados publicados en la literatura. Por ejemplo, Dall-Orsoletta et al. (2016) reportaron que animales que presentaron iguales consumos de materia seca registraron diferentes emisiones de CH<sub>4</sub>, y dichas diferencias fueron asignadas, principalmente, al efecto de los distintos contenidos de FDN en las dietas. Del mismo modo, Primavesi et al. (2003) compararon las emisiones de CH<sub>4</sub> de animales en pastoreo que recibieron una suplementación con dos variedades de caña de azúcar con valores contrastantes de FDN. Estos autores reportaron que el uso de la variedad con una menor proporción de FDN redujo en un 30 % las emisiones de CH<sub>4</sub> en relación con la dieta de mayor contenido de FDN. Bajo estos términos, una dieta con mayor digestibilidad y menores contenidos de FDN mostraría una menor producción de metano entérico. Sin embargo, en el presente estudio, las emisiones de CH<sub>4</sub> no presentaron una reducción para los animales que recibieron la dieta MF con respecto al HF, e incluso con una tendencia a ser mayor ( $p = 0,054$ ), esto a pesar de las diferencias de calidad presentadas a favor de la dieta MF (> digestibilidad, < FDN).

Distintos trabajos con resultados similares han sido desarrollados en Latinoamérica, en los que se comparan dietas forrajeras con distintas calidades y sus respectivas emisiones (g CH<sub>4</sub>/día) (Congio et al., 2021, Zubieta et al., 2021). Por ejemplo, Dini et al. (2018) evaluó las emisiones de CH<sub>4</sub> en dos estaciones (invierno y primavera) comparando forrajes de baja y alta calidad; en primavera fueron, en promedio, 164 y 177 g, respectivamente, sin diferencias. Sin embargo, en invierno, a pesar de no haber diferencias, se presentaron valores promedio de 109 y 160 g para baja y alta calidad, respectivamente, presentándose una clara tendencia ( $p = 0,065$ ) a una mayor emisión por parte del grupo que consumió una dieta de mayor calidad. Asimismo, Gere et al. (2019) compararon recursos forrajeros de distintas calidades (campo natural vs. sorgo y campo natural vs. heno de alfalfa) y reportaron un 20 % mayor de emisión de CH<sub>4</sub> para los animales que recibieron la dieta de mayor calidad en comparación con los forrajes de calidad inferior. El argumento que explicaría estos resultados y que coincidirían con los nuestros se debe al mayor consumo en los tratamientos de mejor valor nutritivo generando mayor producción de CH<sub>4</sub> en términos absolutos.

Distintos trabajos muestran que una mayor cantidad de ingesta de forraje provocaría un aumento de los procesos de fermentación en el rumen y, por tanto, presentaría una mayor tasa de emisión de CH<sub>4</sub> (g/día) (Jonker et al., 2018, Lovett et al., 2005, Moorby et al., 2015, Pinares-Patiño et al., 2003). Bajo este contexto y analizando los resultados obtenidos, se puede argumentar que posiblemente el consumo presentado por el grupo MF impidió reducir las emisiones. Es decir, el efecto de una menor digestibilidad, controlada principalmente por el contenido de fibra, provocó que los animales del grupo HF redujeran su consumo y, por tanto, sus emisiones.

Por otro lado, hubo diferencias en las intensidades de emisión de CH<sub>4</sub>, siendo estas siempre inferiores para los animales alimentados con la dieta de fibra media (MF) en comparación con el grupo alimentado con una dieta alta en fibra (HF). Distintos estudios señalan que la mejor forma de evaluar las emisiones de CH<sub>4</sub> es a través de las intensidades, pues serían un indicativo de la «eficiencia» del sistema de producción. Esta puede ser relacionada al consumo (g CH<sub>4</sub>/kg DMI), a la ganancia de peso (g CH<sub>4</sub>/ADG), así como también a la energía consumida (% Y<sub>m</sub>; Congio et al., 2021). Al aumentar el nivel de alimentación a través de una dieta con mayor digestibilidad y calidad, se presentaría una mayor eficiencia del alimento consumido y, por tanto, una menor intensidad de emisión de metano con relación al consumo (Dini et al., 2018, Hammond et al., 2011, Lee et al., 2004, McCaughey et al., 1997). Distintos resultados de intensidades con relación al consumo han sido reportados. Por ejemplo, Andrade et al. (2016) reportaron intensidades de 22,9 a 25,4 g CH<sub>4</sub>/kg DMI, mientras Dini et al. (2012) muestran intensidades de 21,6 a 22,7 g CH<sub>4</sub>/kg DMI, y Dini et al. (2018) presentaron intensidades promedio de entre 17,9 y 20,2 g CH<sub>4</sub>/kg DMI, todas intensidades dentro de los rangos encontrados en este estudio. Sin embargo, Gere et al. (2019) reportaron valores muy por debajo (11,8 a 12,1 g CH<sub>4</sub>/kg DMI), lo que probablemente se deba a los mayores consumos presentados en tal estudio. En el mismo sentido, la intensidad de emisión de los animales MF expresada con relación a la ganancia de peso vivo (g CH<sub>4</sub>/kg ADG) fue casi dos veces menor al compararse con los animales del grupo HF.

En el último tiempo se ha incrementado el uso de este tipo de evaluación de las emisiones (Congio et al., 2021); sin embargo, las emisiones solo están siendo evaluadas por producto y no como las emisiones totales producidas. Esto viene siendo discutido en, por ejemplo, el trabajo de Beauchemin et al. (2020), los cuales señalan que, aunque haya una disminución de la intensidad de las emisiones debida al aumento

de la eficiencia de producción, su efecto es modesto ( $< 1 \text{ \%/año}$ ) y podría ser insuficiente para compensar el aumento de las emisiones derivado de la creciente demanda de proteínas animales.

Desde un contexto nutricional, las intensidades de emisión pueden ser interpretadas como cuán eficiente energéticamente ( $Y_m$ ) es una dieta con respecto a otra. Esto debido a que la producción de metano es considerada una pérdida de energía, debido a los gastos energéticos derivados de su producción en el rumen (Johnson y Johnson, 1995). El valor de  $Y_m$  obtenido para cada una de las dietas forrajeras evaluadas confirmó que la calidad de esta, definida según el contenido de FDN, puede generar importantes diferencias en cuanto a la eficiencia en el uso del alimento y, por tanto, a la emisión de  $\text{CH}_4$ . En este experimento, el grupo MF presentó un valor de  $Y_m = 6,7 \%$ , cifra muy cercana al  $6,5 \%$  propuesto por el IPCC para animales alimentados con dietas con base forrajera. A su vez, el valor de  $Y_m$  obtenido en el grupo de animales con dieta de HF ( $7,5 \%$ ) se ajusta más bien a lo propuesto por el IPCC para animales alimentados con dietas forrajeras de baja calidad. Estos valores son ampliamente encontrados en los estudios, tanto nacionales como internacionales, y que en gran manera van a depender principalmente de la base alimentaria de la dieta ofrecida (Johnson y Johnson, 1995). Un ejemplo es lo realizado por Dini et al. (2012), que determinaron valores promedio de  $Y_m$  para ganado de vacas lecheras a pastoreo de  $6,6 \%$ . Comparando pasturas con diferente calidad, Dini et al. (2018), para períodos de invierno-primavera, reportan valores de  $4,2 \%$  a  $7,9 \%$ , respectivamente. Estudios en Argentina para ganado de carne alimentado sobre pasturas muestran resultados variables desde  $4,3 \%$  a  $8,2 \%$ , (Gere et al., 2019).

Otro de los resultados interesantes encontrados es lo referido a la relación del consumo de materia seca (DMI) y de fibra ingerido (NDFI) con la emisión de  $\text{CH}_4$  en g/día. En ambos casos se presentaron correlaciones positivas y significativas; sin embargo, se presentó un factor de correlación mayor entre la variable de DMI y la emisión de  $\text{CH}_4$ . Esta diferencia probablemente pueda estar definida por el límite del componente fibra como factor principal en la regulación del consumo, que llevó a que ambos grupos de animales presentasen iguales consumos del componente fibra (NDFI) y que impidió relacionar con la emisión de  $\text{CH}_4$ . Es decir, las emisiones de metano estarían más relacionados al consumo de materia seca que a la ingesta de FDN en dietas con moderados y altos niveles de fibra. La ecuación de regresión obtenida entre DMI (kg DM/día) y producción de  $\text{CH}_4$  (g/día) muestra una relación positiva con un incremento

promedio de emisión de 6,7 % por cada kg de DM consumida. Comparando con otros estudios, se encuentra muy cercano a lo reportado por Alemu et al. (2017) con un promedio de 7 %, utilizando una dieta con inclusión de 90 % de forraje, pero muy por debajo de lo presentado por Kurihara et al. (1999), que presentó un aumento de 14 % en la emisión de CH<sub>4</sub> por cada kg de DM consumida.

Se evaluaron las estimaciones de distintos modelos de predicción de emisión y se compararon con mediciones observadas en distintos estudios bajo dietas de base forrajera (> 60 % de inclusión). Para ello se graficaron los valores observados y predichos (Piñeiro et al., 2008) a través de 6 modelos distintos. El modelo con mejor nivel de exactitud y precisión fue el modelo IPCC 2006, seguido muy de cerca por el modelo Moraes 2004 (a). Ambos alcanzaron un  $r^2$  de 0,7; sin embargo, el modelo IPCC 2006 alcanzó una mejor precisión (< RMSE). No obstante, en los análisis realizados por Moraes et al. (2014) y Ellis et al. (2010), la ecuación propuesta por el IPCC (2006) presentó bajos niveles de exactitud, mientras que para Benaouda et al. (2019) presentó moderados rendimientos en su predicción. Se debe considerar que muchas de las ecuaciones desarrolladas son elaboradas bajo dietas limitadas tanto en mediciones y repeticiones, por lo que su uso debe ser contextualizado (Benaouda et al., 2019). Por ejemplo, la ecuación propuesta por el IPCC (2006) se desarrolló tomando en consideración la energía bruta. Si bien este valor es uno de los mejores estimadores para la determinación de las emisiones (Escobar-Bahamondes et al., 2016) por no presentar una gran variación en dietas forrajeras, cuando las dietas se basan en alimentos concentrados esta puede variar ampliamente y llevar a una predicción menos precisa (Escobar-Bahamondes et al., 2016). Así también, se deben considerar las incertidumbres y discrepancias asociadas a las técnicas de medición de CH<sub>4</sub>, expresadas como coeficiente de variación que puede oscilar entre el 20 y el 27 % (Benaouda et al., 2019).

#### **4. CONCLUSIÓN GENERAL**

En líneas generales, la elaboración de esta tesis permitió abordar uno de los temas más controversiales del último tiempo como es el cambio climático y su relación con la ganadería. Sin lugar a duda, hay mucha información en la literatura con respecto a esto y distintos enfoques que buscan responder y dar solución a esta problemática. Este trabajo de tesis intentó presentar la mayor cantidad de fuentes de información sobre

cómo una dieta de origen forrajero con una determinada composición y calidad puede influir en las emisiones de metano entérico. Se ven resultados claros: una mejor calidad de dieta, sostenida en un menor contenido de fibra, ayudaría a reducir las intensidades de las emisiones. Sin embargo, la diferencia de calidad no alcanzó para mostrar una baja en las emisiones absolutas. Esto es una reflexión que no debe quedar sin destacar, pues en términos absolutos no estaríamos reduciendo las emisiones. Otro punto importante fue el hecho de realizar una revisión de los modelos de ecuaciones de estimación que pueden ser una herramienta importante en las cuantificaciones y, en su defecto, en los inventarios de gases de efecto invernadero (GEI). Sin embargo, se debe tener presente el alcance de los modelos predictores, pues muchos de ellos son desarrollados bajo un cierto escenario dietario que no necesariamente es el mismo en el que se está trabajando.

Por otro lado, sería importante, que además del gas metano, fuera incorporado a las mediciones otro de los GEI importantes en la ganadería como lo es el óxido nitroso ( $N_2O$ ). Esto permitiría darnos un panorama más completo del fenómeno estudiado y contribuir en desarrollar estrategias que involucren a ambos gases.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

- Alemu AW, Vyas D, Manafiazar G, Basarab JA, Beauchemin KA. 2017. Enteric methane emissions from low- and high-residual feed intake beef heifers measured using GreenFeed and respiration chamber techniques. *Journal of Animal Science*, 95(8): 3727. doi:10.2527/jas2017.1501.
- Ayres JF. 1991. Sources of error with in vitro digestibility assay of pasture feeds. *Grass and Forage Science*, 46(1): 89–97. doi:10.1111/j.1365-2494.1991.tb02210.x.
- Beauchemin KA, Kreuzer M, O'Mara F, McAllister TA. 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48(2): 21. doi:10.1071/EA07199.
- Beauchemin KA, Ungerfeld EM, Eckard RJ, Wang M. 2020. Review: Fifty years of research on rumen methanogenesis: lessons learned and future challenges for mitigation. *Animal*, 14(S1): s2–s16. doi:10.1017/S1751731119003100.
- Benaouda M, Martin C, Li X, Kebreab E, Hristov AN, Yu Z, Yáñez-Ruiz DR, Reynolds CK, Crompton LA, Dijkstra J, Bannink A, Schwarm A, Kreuzer M, McGee M, Lund P, Hellwing ALF, Weisbjerg MR, Moate PJ, Bayat AR, Shingfield KJ, Peiren N, Eugène M. 2019. Evaluation of the performance of existing mathematical models predicting enteric methane emissions from ruminants: Animal categories and dietary mitigation strategies. *Animal Feed Science and Technology*, 255(2019): 114207. doi:10.1016/j.anifeedsci.2019.114207.
- Blaxter KL, Clapperton JL. 1965. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *British Journal of Nutrition*, 19(4): 511–522. doi:10.1079/bjn19650046
- Boadi DA, Wittenberg KM. 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(2): 201–206. doi:10.4141/A01-017
- Bonilla J, Flores C. 2012. Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático: Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 3(2): 215–246.
- Burns JC, Pond KR, Fisher DS. 2015. Measurement of forage intake. In: Fahey Jr GC, Moser LE, Mertens DR, Collins M. (Eds.). *Forage Quality, Evaluation, and*

- Utilization. ASA, CSSA, and SSSA. Madison, WI. 494-532.  
doi:10.2134/1994.foragequality.c12.
- Clark H, Kelliher F, Pinares-Patiño C. 2010. Reducing CH<sub>4</sub> Emissions from Grazing Ruminants in New Zealand: Challenges and Opportunities. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 24(2), 295–302. doi:10.5713/ajas.2011.r.04.
- Congio GFS, Bannink A, Mayorga Mogollón OL, Latin America Methane Project Collaborators. 2021. Enteric methane mitigation strategies for ruminant livestock systems in the Latin America and Caribbean region: A meta-analysis. *Journal of Cleaner Production*, 312(2021): 127693.  
doi:10.1016/j.jclepro.2021.127693.
- Dall-Orsoletta AC, Almeida JGR, Carvalho PCF, Savian JV, Ribeiro-Filho HMN. 2016. Ryegrass pasture combined with partial total mixed ration reduces enteric methane emissions and maintains the performance of dairy cows during mid to late lactation. *Journal of Dairy Science*, 99(6): 4374–4383.  
doi:10.3168/jds.2015-10396.
- De Blas C, García Rebollar P, Cambra López M, Torres AG. 2008. Contribución de los rumiantes a las emisiones de gases con efecto invernadero. En: *Curso de Especialización FEDNA - Avances en Nutrición y Alimentación Animal (XXIV, 2008, Madrid, España)*. Eds.: Rebollar PG, de Blas C, Mateos GG. 109–117. Disponible en: [https://www.fundacionfedna.org/publicaciones\\_2008](https://www.fundacionfedna.org/publicaciones_2008).
- Dini Y, Gere JI, Cajarville C, Ciganda VS. 2018. Using highly nutritious pastures to mitigate enteric methane emissions from cattle grazing systems in South America. *Animal Production Science*, 58(12): 2329–2334.  
doi:10.1071/AN16803.
- Dini Y, Gere J, Briano C, Manetti M, Juliarena P, Picasso V, Gratton R, Astigarraga L. 2012. Methane emission and milk production of dairy cows grazing pastures rich in legumes or rich in grasses in Uruguay. *Animals*, 2(2): 288–300.  
doi:10.3390/ani2020288.
- Ellis JL, Bannink A, France J, Kebreab E, Dijkstra J. 2010. Evaluation of enteric methane prediction equations for dairy cows used in whole farm models. *Global Change Biology*, 16(12): 3246–3256. doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02188.x.
- Escobar-Bahamondes P, Oba M, Beauchemin KA. 2016. An evaluation of the accuracy and precision of methane prediction equations for beef cattle fed high-forage and high-grain diets. *Animal*, 11(1): 68–77.

doi:/10.1017/S175173111600121X.

Etheridge DM, Steele LP, Francey RJ, Langenfelds RL. 1998. Atmospheric methane between 1000 A.D. and present: Evidence of anthropogenic emissions and climatic variability. *Journal of Geophysical Research*, 103(D13): 15,979-15,993. doi:10.1029/9

ETIHAG (Equipo Técnico Interinstitucional de la Huella Ambiental Ganadera). 2022. Uruguay: Informe sobre la huella ambiental ganadera. Disponible en: [https://www.gub.uy/ministerio-ambiente/sites/ministerio-ambiente/files/documentos/publicaciones/Huella\\_Ambiental\\_Ganadera\\_Informe%2010-2022.pdf](https://www.gub.uy/ministerio-ambiente/sites/ministerio-ambiente/files/documentos/publicaciones/Huella_Ambiental_Ganadera_Informe%2010-2022.pdf).

Gerber PJ, Steinfeld H, Henderson B, Mottet A, Opio C, Dijkman J, Falcucci A, Tempio G. 2013. Enfrentando el cambio climático a través de la ganadería. Una evaluación global de las emisiones y oportunidades de mitigación. In *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO)*. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i3437s.pdf>.

Gere, J. I., Bualó, R. A., Perini, A. L., Arias, R. D., Ortega, F. M., Wulff, A. E., and Berra, G. 2019. Methane emission factors for beef cows in Argentina: effect of diet quality. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 64(2): 260–268. doi:10.1080/00288233.2019.1621355.

Giridhar, K., Samireddypalle, A. 2015. Impact of Climate Change on Forage Availability for Livestock. In: *Climate Change Impact on Livestock: Adaptation and Mitigation*. V. Sejian, J. Gaughan, L. Baumgard, C. Prasad (Eds.), Springer. 1–532. doi:10.1007/978-81-322-2265-1.

Goopy J, Chang C, Tomkins N. 2016. A Comparison of Methodologies for Measuring Methane Emissions from Ruminants. In: *Methods for Measuring Greenhouse Gas Balances and Evaluating Mitigation Options in Smallholder Agriculture*. Rosenstock T, Rufino M, Butterbach-Bahl K, Wollenberg E, Richards M (Eds.). Springer Nature. 97–117. doi:10.1007/978-3-319-29794-1\_8

Hammond KJ, Pacheco D, Burke JLL, Koolgaard JPP, Muetzel S, Waghorn GCC. 2014. The effects of fresh forages and feed intake level on digesta kinetics and enteric methane emissions from sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 193(2014): 32–43. doi:10.1016/j.anifeedsci.2014.04.005.

Hammond KJ, Hoskin SO, Burke JL, Waghorn GC, Koolgaard JP, Muetzel S. 2011. Effects of feeding fresh white clover (*Trifolium repens*) or perennial ryegrass (*Lolium perenne*) on enteric methane emissions from sheep. *Animal Feed*

Science and Technology, 166–167 (2011): 398–404.

doi:10.1016/j.anifeedsci.2011.04.028.

IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2006. Emissions From Livestock and Manure Management. En: Eggleston HS, Miwa K, Srivastava N, Tanabe K. (Eds.). Vol 4: Agriculture, Forestry and Other Land Use (Guidelines for National Greenhouse Inventories – A primer, Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme). Hayama, Japan. Institute for Global Environmental Strategies (IGES). 1-87. Disponible en: <https://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/vol4.html>.

Janssen PH. 2010. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Animal Feed Science and Technology*, 160(1–2): 1–22. doi:10.1016/j.anifeedsci.2010.07.002.

Jastrow R, Nierenberg W., Seitz F. 1991. Global warming: What does the science tell us? *Energy*, 16(11–12): 1331–1345. doi:10.1016/0360-5442(91)90006-8.

Jaurena G, Cantet JM, Arroquy JI, Palladino RA, Wawrzekiewicz M, Colombatto D. 2015. Prediction of the Y<sub>m</sub> factor for livestock from on-farm accessible data. *Livestock Science*, 177(2015): 52–62. doi:10.1016/j.livsci.2015.04.009.

Johnson KA, Johnson DE. 1995. Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*, 73(8): 2483–2492. doi:10.2527/1995.7382483x.

Jonker A, Farrell L, Scobie D, Dynes R, Edwards G, Hague H, McAuliffe R, Taylor A, Knight T, Waghorn G. 2018. Methane and carbon dioxide emissions from lactating dairy cows grazing mature ryegrass/white clover or a diverse pasture comprising ryegrass, legumes and herbs. *Animal Production Science*, 59(6): 1063–1069. doi:10.1071/AN18019.

Kebreab E, Johnson KA, Archibeque SL, Pape D, Wirth T. 2008. Model for estimating enteric methane emissions from United States dairy and feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 86(10): 2738–2748. doi:10.2527/jas.2008-0960.

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

Kurihara M, Magner T, Hunter RA, McCrabb GJ. 1999. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. *British Journal of Nutrition*, 81(3): 227–

234. doi:10.1017/S0007114599000422.

- Lassey KR. 2007. Livestock methane emission: From the individual grazing animal through national inventories to the global methane cycle. *Agricultural and Forest Meteorology*, 142(2–4): 120–132. doi:10.1016/j.agrformet.2006.03.028.
- Lee JM, Woodward SL, Waghorn GC, Clark DA. 2004. Methane emissions by dairy cows fed increasing proportions of white clover (*Trifolium repens*) in pasture. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 66(2004): 151–155. doi:10.33584/jnzg.2004.66.2552.
- Lovett DK, Stack LJ, Lovell S, Callan J, Flynn B, Hawkins M, O'Mara FP. 2005. Manipulating enteric methane emissions and animal performance of late-lactation dairy cows through concentrate supplementation at pasture. *Journal of Dairy Science*, 88(8): 2836–2842. doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)72964-7.
- McAllister TA, Okine EK, Mathison GW, Cheng KJ. 1996. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, 76(2): 231–243. doi:10.4141/cjas96-035
- McCaughey WP, Wittenberg K, Corrigan D. 1997. Methane production by steers on pasture. *Canadian Journal of Animal Science*, 77(3): 519–524. doi:10.4141/A96-137.
- MGAP-OPYPA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca-Oficina de Programación y Política Agropecuaria). 2021. Análisis Sectorial de Programación y Política Agropecuaria. [En línea]. 14 abril 2023. Disponible en: <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/comunicacion/publicaciones/anuario-opypa-2021/anuario-opypa-2021>
- Mieres JM. 2004. Guía para la alimentación de rumiantes. In Unidad de Agronegocios y Difusión del INIA (Ed.), INIA, Serie Técnica 142. [En línea]. 14 abril 2023. Disponible en: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/2887/1/111219240807141556.pdf>
- Moe PW, Tyrrell HF. 1979. Methane Production in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 62(10): 1583–1586. doi:10.3168/jds.S0022-0302(79)83465-7.
- Montossi F, Pigurina G, Santamarina I, Berretta EJ. 2000. Selectividad animal y valor nutritivo de la dieta de ovinos y vacunos en sistemas ganaderos: teoría y práctica. INIA. Serie Técnica 113: 84.
- Moorby JM, Fleming HR, Theobald VJ, Fraser MD. 2015. Can live weight be used as a proxy for enteric methane emissions from pasture-fed sheep? *Scientific*

- Reports, 5(1): 17915. doi:10.1038/srep17915
- Moraes LE, Strathe AB, Fadel JG, Casper DP, Kebreab E. 2014. Prediction of enteric methane emissions from cattle. *Global Change Biology*, 20(7): 2140–2148. doi:10.1111/gcb.12471.
- Moss AR, Jouany JP, Newbold J. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de Zootechnie*, 49(3): 231–253. doi:10.1051/animres:2000119.
- MVOTMA (Ministerio de Vivienda y Ordenamiento Territorial y Ambiente). 2019. Uruguay: Tercer Informe Bienal de Actualización a la Conferencia de las Partes en la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático. [En línea]. 14 abril 2023. Disponible en: [https://www.gub.uy/ministerio-ambiente/sites/ministerio-ambiente/files/documentos/noticias/20191231\\_URUGUAY\\_BUR3\\_ESP\\_1.pdf](https://www.gub.uy/ministerio-ambiente/sites/ministerio-ambiente/files/documentos/noticias/20191231_URUGUAY_BUR3_ESP_1.pdf)
- OPYPA (Oficina de Programación y Política Agropecuaria). 2022. Análisis sectorial y cadenas productivas. *Temas de política. Estudios*. [En línea]. 14 abril 2023. Disponible en: [www.mgap.gub.uy/opypa](http://www.mgap.gub.uy/opypa)
- Oliveira LF, Ruggieri AC, Branco RH, Cota OL, Canesin RC, Costa HJU, Mercadante MEZ. 2016. Feed efficiency and enteric methane production of Nellore cattle in the feedlot and on pasture. *Animal Production Science*, 58(5): 886. doi:10.1071/AN16303.
- Pinares-Patiño CS, Baumont R, Martin C. 2003. Methane emissions by Charolais cows grazing a monospecific pasture of timothy at four stages of maturity. *Canadian Journal of Animal Science*, 83(4): 769–777. doi:10.4141/A03-034.
- Piñeiro G, Perelman S, Guerschman JP, Paruelo JM. 2008. How to evaluate models: Observed vs. predicted or predicted vs. observed? *Ecological Modelling*, 216(3–4): 316–322. doi:10.1016/j.ecolmodel.2008.05.006.
- Primavesi O, Frighetto RTS, Pedreira MS, Lima MA, Berchielli TT, Rodrigues AA. 2003. Low-fiber sugarcane to improve meat production with less methane emission in tropical dry season. *Proceedings of the 3rd International Methane & Nitrous Oxide Mitigation Conference*, 185–189. [En línea]. 14 abril 2023. Disponible en: <http://www.coalinfo.net.cn/coalbed/meeting/2203/papers/agriculture/AG066.pdf>
- Santiago-Juarez B, Moraes LE, Appuhamy JADRN, Pellikaan WF, Casper DP, Tricarico J, Kebreab E. 2016. Prediction and evaluation of enteric methane emissions from lactating dairy cows using different levels of covariate

- information. *Animal Production Science*, 56(3): 557–564.  
doi:10.1071/AN15496
- Sejian V, Lal R, Lakritz J, Ezeji T. 2011. Measurement and prediction of enteric methane emission. *International Journal of Biometeorology*, 55(1): 1–16.  
doi:10.1007/s00484-010-0356-7.
- Smith WB, Galyean ML, Kallenbach RL, Greenwood PL, Scholljegerdes EJ. 2021. Understanding intake on pastures: how, why, and a way forward. *Journal of Animal Science*, 99(6): 1–17. doi:10.1093/jas/skab062.
- Solomon S, Qin D, Manning M, Averyt K, Marquis, M. 2007. *Climate change 2007- the physical science basis: Working group I contribution to the fourth assessment report of the IPCC (Vol. 4)*. Cambridge University Press. 56 p.
- UFCCC (United Nations Framework Convention on Climate Change). 2020. *United Nations Climate Change Annual Report 2020*. [En línea]. 14 abril 2023.  
Disponible en:  
[https://unfccc.int/sites/default/files/resource/UNFCCC\\_Annual\\_Report\\_2020.pdf](https://unfccc.int/sites/default/files/resource/UNFCCC_Annual_Report_2020.pdf)
- Van Soest PJ. 1994. *Nutritional Ecology of Ruminants (2nd ed.)*. Cornell University Press. 476 p.
- Van Soest PJ. 1965. Symposium on Factors Influencing the Voluntary Intake of Herbage by Ruminants: Voluntary Intake in Relation to Chemical Composition and Digestibility. *Journal of Animal Science*, 24(3): 834–843.  
doi:10.2527/jas1965.243834x.
- Wang CK, Luo XZ, Zhang H. 2013. Shares differences of greenhouse gas emissions calculated with GTP and GWP for major countries. *Advances in Climate Change Research*, 4(2): 127–132. doi:10.3724/SP.J.1248.2013.127.
- Zubieta ÁS, Savian JV, de Souza Filho W, Wallau MO, Gómez AM, Bindelle J, Bonnet OJF, de Faccio Carvalho PC. 2021. Does grazing management provide opportunities to mitigate methane emissions by ruminants in pastoral ecosystems? *Science of The Total Environment*, 754(2021): 142029.  
doi:10.1016/j.scitotenv.2020.142029.