

EFFECTO *in vitro* DE DIETAS PARA CORDEROS MÁS UN SUPLEMENTO DE GRANOS SECOS DE DESTILERÍA EN LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y EMISIONES DE GASES

In vitro EFFECT OF DIETS FOR GROWING LAMBS SUPPLEMENTED WITH DRIED DISTILLERS GRAINS ON RUMEN FERMENTATION AND GAS EMISSIONS

Mario A. Cobos-Peralta¹, Karym R. Curzaynz-Leyva¹, Mayra I. Rivas-Martínez¹,
Emma A. Santillán-Gómez¹, José R. Bárcena^{1*}

¹Programa de Ganadería, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, 56230. Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. (rbarcelona@colpos.mx) (r-barcelona@hotmail.com).

RESUMEN

La mayoría de las emisiones de gases con efecto invernadero (GEI) provenientes de la producción pecuaria se atribuye a los rumiantes. El metano es el GEI más importante por su potencial de calentamiento y hay diferentes estrategias para disminuir sus emisiones, una de las cuales es conocer la cantidad de GEI en las dietas. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto *in vitro* de los granos secos de destilería de maíz más solubles (DDGS, sigla en inglés) en la fermentación ruminal, biogás total, emisiones de metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂) en dietas para corderos. La degradación *in vitro* de la materia seca (DIVMS), pH, concentración molar de ácidos grasos volátiles (AGV) y número total de bacterias se determinaron después de 72 h de incubación, y la producción de biogás, CH₄ y CO₂ a las 24, 48 y 72 h de fermentación de las tres dietas que contenían 0, 20 y 40 % de DDGS en base a la MS. La DIVMS fue mayor ($p \leq 0.05$) en la dieta con 0 % GSDM. No hubo diferencias ($p > 0.05$) en pH, bacterias totales y concentración de AGV entre tratamientos. La producción total de biogás fue mayor ($p \leq 0.05$) en la dieta con 40 % de DDGS. La producción acumulada de CH₄ fue menor ($p \leq 0.05$) en la dieta con 20 % de DDGS respecto a la dieta con 0 % de DDGS, y la producción acumulada de CO₂ fue mayor ($p \leq 0.05$) en la dieta con 40 % de DDGS. La inclusión de 20 o 40 % de DDGS en las dietas para corderos reduce la producción acumulada de CH₄, sin afectar las variables de fermentación ruminal, pero la inclusión de 40 % de DDGS incrementa la producción de biogás total y CO₂.

Palabras clave: biogás, DDGS, metano, corderos.

*Autor responsable ❖ Author for correspondence.
Recibido: diciembre, 2016. Aprobado: agosto, 2017.
Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 52: 203-215. 2018.

ABSTRACT

Most of the greenhouse gas (GHG) emissions from livestock production is attributed to ruminants. As a consequence of its warming potential, methane is the most important GHG, and different strategies have been implemented to reduce its emissions, including finding out the amount of GHG in the diets. Therefore, the objective of this study was to determine the *in vitro* effect of dried corn distillers grains with solubles (DDGS) on rumen fermentation, total biogas, and methane (CH₄) and carbon dioxide (CO₂) emissions in diets for lambs. The *in vitro* degradation of dry matter (DIVMS), pH, molar concentration of volatile fatty acids (AGV), and total bacteria count were determined after 72 h of incubation; meanwhile, the production of biogas, CH₄, and CO₂ was determined after 24, 48, and 72 h of fermentation of the three diets containing 0, 20, and 40 % DDGS based on the dry matter (MS). The DIVMS was higher ($p \leq 0.05$) in the 0 % GSDM diet. No differences ($p > 0.05$) in pH, total bacteria, and AGV concentration were found among treatments. The total biogas production was higher ($p \leq 0.05$) in 40 % DDGS diet. The cumulative CH₄ production was lower ($p \leq 0.05$) by 20 % DDGS diet compared to 0 % DDGS diet, and the cumulative CO₂ production was higher ($p \leq 0.05$) in 40 % DDGS diet. Including 20 or 40 % of DDGS in diets for lambs reduces cumulative CH₄ production, without affecting the rumen fermentation variables; however, including 40 % of DDGS increases the production of total biogas and CO₂.

Keywords: biogas, DDGS, methane, lambs.

INTRODUCTION

Global warming—caused by the increase of greenhouse gases (GHG) in the atmosphere—is a major environmental, economic, and

INTRODUCCION

El calentamiento global causado por el incremento atmosférico de los gases con efecto invernadero (GEI) es una gran amenaza ambiental, económica y social en el mundo (O'Mara, 2011). Según Gerber *et al.* (2013) las actividades agrícolas causan 14.5 % de las emisiones de GEI en el mundo. Un GEI con mayor impacto en la atmósfera es el metano (CH_4). Los rumiantes emiten GEI en forma de CH_4 al eructar y desde el estiércol se libera óxido nitroso (N_2O); además, el uso de los combustibles fósiles emite dióxido de carbono (CO_2) (O'Mara, 2011). Las emisiones de GEI asociadas con los rumiantes se deben a la formación de CH_4 en el rumen por una conversión deficiente del alimento (de Vries and de Boer, 2010).

Para reducir las emisiones de GEI y la dependencia a los combustibles fósiles en los sistemas ganaderos, los gobiernos apoyan la producción de combustibles con fuentes renovables como el maíz y otros granos, lo cual causa un aumento exponencial de la producción de etanol. Los granos secos de destilaría más solubles (DDGS, sigla en inglés) son el subproducto principal de la producción de etanol, y por su alto contenido energético pueden sustituir a los granos (Klopfenstein *et al.*, 2008) y en menor medida a los forrajes (Li *et al.*, 2011).

El nivel óptimo de inclusión de los DDGS en las dietas para bovinos en engorda oscila entre 20 y 30 % de MS (Buckner *et al.*, 2008; Depenbusch *et al.*, 2009), pero es factible usar 40 % y mejorar la conversión alimenticia (Amat *et al.*, 2012). La sustitución del grano de cebada por DDGS de maíz reduce la producción de CH_4 de 7.1 a 5.4 % en bovinos en crecimiento y alimentados con niveles altos de ensilado de cebada (McGinn *et al.*, 2009); esta reducción se atribuye al contenido de grasa (12.7 %) en los DDGS. Al sustituir 35 % de grano de cebada y 5 % de pasta de canola por DDGS en dietas altas en forraje se redujo de 7.8 a 6.6 % la energía total consumida por la emisión de CH_4 (Hünerberg *et al.*, 2013). La inclusión de 40 o 60 % de DDGS en la dieta de ovinos disminuye la digestibilidad de la MS y de la grasa, pero no hay efecto con 20 % de GSDM (Félix *et al.*, 2012); sin embargo, se usa hasta 60 % de DDGS en dietas para corderos, sin afectar su crecimiento o salud (Schauer *et al.*, 2008).

social threat all over the world (O'Mara, 2011). According to Gerber *et al.* (2013), agricultural activities are responsible for 14.5 % of global GHG emissions. Methane (CH_4), a GHG, has a major impact on the atmosphere. Ruminants emit GHG in the form of CH_4 when they burp, and nitrous oxide (N_2O) is released from their manure; in addition, the use of fossil fuels emits carbon dioxide (CO_2) (O'Mara, 2011). The formation of CH_4 in rumen (due to poor feed conversion) is the origin of the GHG emissions associated with ruminants (de Vries and de Boer, 2010).

To reduce GHG emissions and dependence on fossil fuels in livestock systems, governments support the production of fuels with renewable sources—such as corn and other grains—, which causes an exponential increase in ethanol production. The dried distillers grains with solubles (DDGS) are the main byproduct of ethanol production, and because of their high energy content, they can substitute grains (Klopfenstein *et al.*, 2008) and, to a lesser extent, fodders (Li *et al.*, 2011).

The optimal level of DDGS inclusion in diets for cattle fattening ranges between 20 and 30 % MS (Buckner *et al.*, 2008; Depenbusch *et al.*, 2009), but it is feasible to use 40 % and improve feed conversion (Amat *et al.*, 2012). Substitution of barley grain by corn DDGS reduces CH_4 production from 7.1 to 5.4 % in growing cattle fed with high levels of barley silage (McGinn *et al.*, 2009); this reduction is attributed to DDGS fat content (12.7 %). By replacing 35 % of barley grain and 5 % of canola meal with DDGS in high-fodder diets, the total energy consumed by the emission of CH_4 was reduced from 7.8 to 6.6 % (Hünerberg *et al.*, 2013). Including 40 or 60 % of DDGS in the diet of sheep decreases the MS and fat digestibility, but including 20 % of GSDM has no effect (Félix *et al.*, 2012); however, up to 60 % of DDGS can be used in the diet of lambs, without affecting their growth or health (Schauer *et al.*, 2008).

Therefore, the objective of this study was to determine in vitro the production of biogas, CH_4 , and CO_2 , and the fermentative variables in 20 and 40 % DDGS diets for growing lambs.

MATERIALS AND METHODS

All lamb management procedures applied in this study were approved by the Comité de Cuidado Animal del Programa

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar *in vitro* la producción de biogás, CH₄ y CO₂ y variables fermentativas en dietas con 20 y 40 % de DDGS para corderos en crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los procedimientos de este estudio relacionados con el manejo de los corderos fue aprobado por el Comité de Cuidado Animal del Programa de Ganadería, Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco Km 36.5, Montecillo, Estado de México.

Localización

El experimento se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología Ruminal y Genética Microbiana del Programa de Ganadería del Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados.

Dietas experimentales

En este estudio se evaluaron tres dietas formuladas de acuerdo con los requerimientos nutricionales NRC (2007) para corderos en crecimiento, con 0, 20 y 40 % de DDGS de maíz y con una proporción forraje:concentrado de 15:85. Los DDGS fueron incluidos para sustituir el parte el grano de maíz, pasta de soya y gluten de maíz en el concentrado, manteniendo las dietas isonitrogenadas (Cuadro 1).

Análisis químico

La composición química de las dietas (Cuadro 1) fue determinada por los métodos de la AOAC (2005): materia seca (MS; método 930.15), cenizas (método 942.05), extracto etéreo (EE; método 954.02) y proteína cruda (PC; método 984.13). El contenido de fibra detergente neutro (FDN) y ácido (FDA) se determinó con el método propuesto por Van Soest *et al.* (1991).

Animales y líquido ruminal

Tres corderos Rambouillet (37±2.5 kg; seis meses de edad promedio) con cánula en el rumen se usaron para obtener líquido ruminal fresco (LR). Los corderos fueron adaptados a las dietas experimentales por 21 d antes de iniciar el estudio *in vitro*. En el día 22 se recolectaron 500 mL de LR de cada borrego, 3 h después de la alimentación matutina. El LR se llevó al laboratorio en un termo a 39 °C para inocular los biofermentadores con las dietas experimentales.

de Ganadería (Animal Care Committee, Livestock Farming Program), Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco Km 36.5, Montecillo, Estado de México.

Location

The experiment was developed in the Laboratorio de Microbiología Ruminal y Genética Microbiana, Programa de Ganadería, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados.

Experimental diets

Three diets were evaluated for this study. The diets were formulated in agreement with the NRC nutritional requirements (2007) for growing lambs, with 0, 20, and 40 % corn DDGS and with a 15:85 fodder:concentrate ratio. The DDGS partially replaced the corn grain, soybean meal, and corn gluten in the concentrate, maintaining the isonitrogenous diets (Table 1).

Chemical analysis

The chemical composition of the diets (Table 1) was determined using the methods of the AOAC (2005): dry matter (MS; method 930.15), ash (method 942.05), ethereal extract (EE; method 954.02), and crude protein (CP; method 984.13). The content of neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) was determined using the method proposed by Van Soest *et al.* (1991).

Animals and rumen fluid

Three Rambouillet lambs (37±2.5 kg; average six months old) with cannula in the rumen were used to obtain fresh rumen fluid (RF). The lambs were adapted to the experimental diets during 21 d before the *in vitro* study started. On the 22nd day, 500 mL of RF were collected from each lamb, 3 h after the morning feeding. The RF was carried in a thermos flask (at 39 °C) to the laboratory, where the biofermenters were inoculated with the experimental diets.

Biogas measurement

Ingredients and diets were ground using a 1 mm mesh in a Willey mill (Arthur H. Thomas, Philadelphia, PA). Samples of 0.5 g MS were weighed and poured into 120-mL serological vials, with 45 mL of culture medium for total bacteria (Cobos and Yokoyama, 1995), in order to replace

Cuadro 1. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales.
Table 1. Ingredients and chemical composition of experimental diets.

| Ingredientes (g kg ⁻¹ MS) | DDGS [‡] , % | | |
|---|-----------------------|-----|-----|
| | 0 | 20 | 40 |
| DDGS [‡] | 0 | 200 | 400 |
| Grano de maíz | 473 | 396 | 300 |
| Melaza | 60 | 60 | 60 |
| Pasta de soya | 128 | 68 | 0 |
| Salvado de trigo | 70 | 50 | 50 |
| Rastrojo de maíz | 150 | 150 | 150 |
| Gluten de maíz | 70 | 40 | 15 |
| Grasa de sobrepaso | 24 | 11 | 0 |
| Carbonato de calcio | 10 | 10 | 10 |
| Sal | 5 | 5 | 5 |
| Minerales [§] | 10 | 10 | 10 |
| Composición química (g kg ⁻¹ MS) | | | |
| Materia seca (g kg ⁻¹) | 943 | 952 | 942 |
| Proteína cruda | 185 | 180 | 187 |
| Materia orgánica | 937 | 934 | 955 |
| Extracto etéreo | 32 | 37 | 44 |
| Fibra detergente neutro | 220 | 294 | 317 |
| Fibra detergente ácido | 138 | 160 | 163 |

[‡]DDGS: Granos secos de destilería más solubles de maíz. [§]Ca 24 %; Cl 12 %; Mg 2 %; P 3 %; K 0.50 %; Na 8 %; S 0.50 %; Cr 5 mg kg MS⁻¹; Co 60 mg kg MS⁻¹; I 100 mg kg MS⁻¹; Fe 2000 mg kg MS⁻¹; Mn 4000 mg kg MS⁻¹; Se 30 mg kg MS⁻¹; Zn 5000 mg kg MS⁻¹; Lasolocida 2000 mg kg MS⁻¹; Vitamina A 500 000 UI kg⁻¹; Vitamina D 150 000 UI kg⁻¹; Vitamina E 1000 UI kg⁻¹. ❖
[‡]DDGS: Dried corn distillers grains with solubles. [§]Ca 24 %; Cl 12 %; Mg 2 %; P 3 %; K 0.50 %; Na 8 %; S 0.50 %; Cr 5 mg kg MS⁻¹; Co 60 mg kg MS⁻¹; I 100 mg kg MS⁻¹; Fe 2000 mg kg MS⁻¹; Mn 4000 mg kg MS⁻¹; Se 30 mg kg MS⁻¹; Zn 5000 mg kg MS⁻¹; Lasolocid 2000 mg kg MS⁻¹; Vitamin A 500 000 IU kg⁻¹; Vitamin D 150 000 IU kg⁻¹; Vitamin E 1000 IU kg⁻¹.

Medición de biogás

Los ingredientes y las dietas se molieron con malla de 1 mm en un molino Willey (Arthur H. Thomas, Philadelphia, PA). Muestras de 0.5 g de MS se pesaron y agregaron a viales serológicos de 120 mL, con 45 mL de medio de cultivo para bacterias totales (Cobos y Yokoyama, 1995), para sustituir las fuentes de energía (glucosa, celulosa y almidón) por los ingredientes o las dietas experimentales según el tratamiento. Todos los viales se mantuvieron en condiciones anaeróbicas con CO₂ y cada vial se consideró un biofermentador y una unidad experimental. Las proporciones de CH₄ y CO₂ se determinaron en un cromatógrafo de gases (Perkin-Elmer®) equipado con un detector de conductividad térmica y una columna empacada Poropack. Las condiciones de detección fueron: temperaturas de horno 80 °C, columna empacada 170 °C y detector de conductividad térmica 130 °C; tiempos de retención 0.71 y 1.05 min para CH₄ y CO₂, respectivamente. El gas acarreador fue helio con un flujo de 23 mL m⁻¹. La concentración molar de CH₄ y CO₂ se calcularon

the energy sources (glucose, cellulose, and starch) with the experimental ingredients or diets according to the treatment. All vials were kept in anaerobic conditions with CO₂, and each vial was considered as a biofermenter and an experimental unit. The proportions of CH₄ and CO₂ were determined in a PerkinElmer® gas chromatograph equipped with a thermal conductivity detector and a Poropak packed column. The detection conditions were: oven temperatures at 80 °C, packed column at 170 °C, and thermal conductivity detector at 130 °C; retention times were 0.71 and 1.05 min for CH₄ and CO₂, respectively. Helium was used as the carrier gas with a 23 mL m⁻¹ flow. The CH₄ and CO₂ molar concentration was calculated according to the Ideal Gas Equation (Posada and Noguera, 2005). Volatile fatty acids (AGV) were determined in a PerkinElmer® gas chromatograph with a flame ionization detector. The working conditions were: oven temperature at 130 °C, and injector and capillary column (15×0.32 m) at 250 °C. The retention times were: 1.26 min for acetate, 1.6 min for propionate, and 2.09 min for butyrate.

según la ecuación de gases ideales (Posada y Noguera, 2005). Los ácidos grasos volátiles (AGV) se determinaron en un cromatógrafo de gases (Perkin-Elmer®) con un detector de ionización con flama. Las condiciones de trabajo fueron: temperatura de horno 130 °C, y de el inyector y la columna capilar (15×0.32 m) 250 °C. Los tiempos de retención fueron 1.26 min para acetato, 1.6 min propionato y 2.09 min butirato.

Producción *in vitro* de biogás

Para cuantificar la cantidad de biogás, CH₄ y CO₂ se adaptó la técnica descrita por Krabill *et al.* (1969) en relación a la captura de biogás con solución saturada acidificada, cambiando el Na₂SO₄ al 20 % (p/v) por NaCl para que el CO₂ no se mezcle con el agua. Esta metodología permite estudiar diversos alimentos y se puede cuantificar el total de biogás, CH₄ y CO₂ de una manera práctica, sencilla y económica.

El biogás se capturó en trampas de solución salina saturada (370 g NaCl L⁻¹ de agua y 5 mL de naranja de metilo al 0.1 % como indicador de pH) con pH 2 ajustado con HCl a 1 N. Los viales serológicos de 120 mL se llenaron completamente con la solución salina y sellados herméticamente con un tapón de neopreno (2 cm de diámetro) y sellados con un arillo de aluminio con una selladora Wheaton®. Las trampas se cambiaron cada 24 h durante las 72 h de la fermentación.

Los biofermentadores se incubaron en baño María a 39 °C, se inocularon con líquido ruminal fresco centrifugado a 1157 g por 3 min y conectados a las trampas de captura por medio de una manguera Tygon® con un diámetro interior de 3/32". La manguera fue adaptada con dos agujas amarillas de la marca Terumo® de calibre 20 G×1" en cada extremo. Una manguera se colocó en el biofermentador y la otra a la trampa de captura, la cual tenía una aguja con las características ya mencionadas, que sirvió como válvula de liberación de la solución salina saturada. La trampa se colocó en forma invertida en una probeta de plástico con un corte en V.

Para no obstruir el paso del biogás, la manguera fue bloqueada con una pinza de plástico para liberar el gas a las 24, 48 y 72 h de fermentación. La producción de biogás total se cuantificó midiendo el desplazamiento del líquido de las trampas en la probeta. Para medir la cantidad de CH₄ y CO₂ se tomó una muestra de 500 µL del espacio invertido de las trampas.

Evaluación de las variables de fermentación ruminal

Las muestras se tomaron de la fase líquida a las 72 h de cada biofermentador, en viales Eppendorf® de 2 mL, con ácido metafosfórico al 25 % con una proporción 4:1, y se congelaron a -4 °C, para después medir la concentración molar de

In vitro biogas production

In order to quantify the biogas (CH₄ and CO₂) amount, the biogas capture technique described by Krabill *et al.* (1969)—which uses an acidified saturated solution— was adapted, replacing the 20 % Na₂SO₄ (m/v) with NaCl, in order to prevent CO₂ from mixing with water. This methodology enables the study of different foods, and the practical, simple, and economic quantification of total biogas (CH₄ and CO₂).

The biogas was captured in saturated saline solution traps (370 g NaCl L⁻¹ of water, and 5 mL of methyl orange at 0.1 % as pH indicator) with pH 2 adjusted with HCl to 1 N. The 120-mL serological vials were completely filled with the saline solution and hermetically sealed with a 2-cm wide neoprene cap and with an aluminum ring with a Wheaton® crimper. The traps were changed every 24 h during the 72 h fermentation period.

The biofermenters were incubated in a 39 °C bain-marie; afterwards, they were inoculated with fresh rumen fluid centrifuged at 1157 g during 3 min; finally, they were connected to traps by means of a Tygon® hose (3/32" inside diameter). The hose was adapted with two 20 G×1" Terumo® yellow needles at each end. One hose was placed in the biofermenter and the other in the capture trap; the latter had a needle with the above-mentioned characteristics that served as release valve for the saturated saline solution. The trap was placed inverted in a plastic test tube with a V-shaped cut.

To prevent the obstruction of the biogas flow, the hose was blocked with a plastic clamp that released the gas at 24, 48, and 72 h of fermentation. The total biogas production was quantified measuring the movement of trap fluid in the test tube. To measure the amount of CH₄ and CO₂, a 500 µL sample was taken from the inverted space in the traps.

Evaluation of the rumen fermentation variables

Samples were taken from each biofermenter's liquid phase at 72 h, using 2-mL Eppendorf® vials, with a 25 % metaphosphoric acid (4:1 ratio), and they were frozen at -4 °C; subsequently, the AGV molar concentration was measured by gas chromatography (Erwin *et al.*, 1961). The concentration of rumen bacteria was evaluated by direct counting in a Petroff House® chamber and using a 1000 X Olympuss® contrast microscope. The pH was measured directly from the biofermenter at 72 h, using an ORION® potentiometer, calibrated at pH 4 and 7. Biofermenter content was filtered through Whatman paper in order to recover non-degraded MS, and *in vitro* degradation of MS (DIVMS) was calculated by weight difference.

los AGV por cromatografía de gases (Erwin *et al.*, 1961). La concentración de bacterias ruminales se evaluó por conteo directo en una cámara Petroff Houser® y en un microscopio de contraste Olympuss® a 1000 X. El pH se midió directamente del biofermentador a las 72 h con un potenciómetro ORION®, calibrado a pH 4 y 7. El contenido del biofermentador se filtró en papel Whatman para recuperar la MS no degradada y por diferencia de peso se calculó la degradación *in vitro* de la MS (DIVMS).

Diseño y análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar, con cinco repeticiones por variable. Las variables pH, DIVMS, concentración molar total de AGV, producción acetato, propionato y butirato se analizaron a las 72 h de fermentación, y la producción de biogás total, CH₄ y CO₂ acumulados y producción de CH₄ y CO₂ por cada 100 g de MS, a las 24, 48 y 72 h. Los resultados se analizaron con GLM de SAS (SAS Inc., 2011) y las medias se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Para cumplir con la normalidad y homogeneidad de varianzas, los datos de concentración de bacterias se transformaron a Log 10, previo al análisis estadístico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VARIABLES DE LA FERMENTACIÓN RUMINAL

Las degradaciones fueron menores a las esperadas para una dieta totalmente mezclada con 85 % concentrado y 15 % forraje. En las dietas con 20 y 40 % de DDGS la DIVMS fue 17.3 y 25.1 % menor ($p \leq 0.05$), respectivamente, y este resultado es similar al reportado por Félix *et al.* (2012) (Cuadro 2).

La diferencia encontrada en la DIVMS entre las dietas experimentales se atribuye a la sustitución parcial del grano de maíz y pasta de soya que tienen una mayor DIVMS que los DDGS (Cuadro 3). Sin embargo, Buckner *et al.* (2008) y Depenbusch *et al.* (2009) muestran una utilización óptima de 20 a 30 % de la MS de DDGS en bovinos en engorda, y hasta 40 %, sin afectar la conversión alimenticia ni el crecimiento (Amat *et al.*, 2012; Gibb *et al.*, 2008; Klopfenstein *et al.*, 2008). Según Schauer *et al.* (2008), no cambia el comportamiento productivo de borregos alimentados con dietas con 20 % de la MS con DDGS. Avila-Stagno *et al.* (2013) reportaron una reducción lineal de la DIVMS al incluir DDGS de trigo en sustitución de la pasta de soya en dietas

Design and statistical analysis

The experimental design was fully randomized, with five repetitions per variable. The variables (pH, DIVMS, AGV total molar concentration, and acetate, propionate and butyrate production) were analyzed at 72 h of fermentation; the production of total biogas, cumulative CH₄ and CO₂, and CH₄ and CO₂ production per 100 g of MS, were also analyzed at 24, 48, and 72 h. The results were analyzed with GLM from SAS (SAS Inc., 2011) and the means were compared using the Tukey test ($p \leq 0.05$). To fulfill the normality and homogeneity of the variances, the bacteria concentration data were transformed to Log 10, prior to statistical analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

Rumen fermentation variables

The degradations were lower than expected for a completely mixed diet (85 % concentrate and 15 % fodder). In 20 and 40 % DDGS diets, DIVMS was 17.3 and 25.1 % lower ($p \leq 0.05$), respectively; this result is similar to that reported by Félix *et al.* (2012) (Table 2).

The difference between the DIVMS of the experimental diets is attributed to the partial substitution of corn kernel and soybean meal that have higher DIVMS than DDGS (Table 3). However, Buckner *et al.* (2008) and Depenbusch *et al.* (2009) show an optimal use of 20 to 30 % MS of DDGS in cattle fattening, and up to 40 %, without affecting neither feed conversion nor growth (Amat *et al.*, 2012; Gibb *et al.*, 2008; Klopfenstein *et al.*, 2008). According to Schauer *et al.* (2008), the productive behavior of lambs fed with 20 % MS with DDGS diets does not change. Avila-Stagno *et al.* (2013) reported a linear reduction of the DIVMS when DDGS of wheat was used to replace soybean meal in the diet of lambs. When canola meal and barley grain were replaced with 20 % MS of wheat DDGS, DIVMS decreased 6.17 %; however, there was no difference, when they were substituted with 20 % MS of corn DDGS (McKeown *et al.*, 2010).

The AGV concentration did not change as a result of the inclusion of DDGS in diets, which is similar to what was reported by Mišta *et al.* (2014), but McKeown *et al.* (2010) mention that with 20 % MS of DDGS in lamb growth diets, the propionate concentration increased without affecting the total

Cuadro 2. Variables de fermentación ruminal en las dietas experimentales.
Table 2. Rumen fermentation variables in experimental diets.

| DDGS [‡] , % de MS | DIVMS [§] % | pH | Acetato | Propionato | Butirato | Total AGV mM [‡] | Bact ¹ [‡] × 10 ⁹ mL ⁻¹ |
|-----------------------------|-------------------------|------|--------------------------|------------|----------|------------------------------|--|
| | | | mM por 100 mM producidos | | | | |
| 0 | 58.64 ^a | 6.71 | 46.94 | 40.04 | 13.01 | 203 | 7.50 |
| 20 | 48.49 ^b | 6.72 | 47.86 | 39.93 | 12.19 | 190 | 6.20 |
| 40 | 43.92 ^c | 6.68 | 47.98 | 38.89 | 13.11 | 196 | 4.70 |
| p | <0.0001 | 0.74 | 0.29 | 0.33 | 0.06 | 0.47 | 0.55 |
| EEM | 1.08 | 0.03 | 0.49 | 0.57 | 0.26 | 6.99 | 0.12 |

[‡]DDGS: Granos secos de destilería más solubles de maíz; [§]DIVMS: Degradación *in vitro* de la materia seca; [‡]Bact: Conteo total de bacterias; [‡]mM: Concentración molar; EEM: Error estándar de la media. ^{a,b,c} Letras diferentes en una columna indican diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$). [‡]DDGS: Dried corn distillers grains with solubles. [§]DIVMS: *In vitro* degradation of dry matter; [‡]Bact: Total bacteria count; [‡]mM: Molar concentration; EEM: Standard error of the mean. ^{a,b,c} Different letters in a column indicate a statistically significant difference ($p \leq 0.05$).

Cuadro 3. Variables de fermentación ruminal de los ingredientes utilizados en las dietas.
Table 3. Rumen fermentation variables of the ingredients used in the diets.

| Ingredientes | DIVMS [§] % | pH | Acetato | Propionato | Butirato | Total AGV mM [‡] | Bact ¹ [‡] 10 ⁹ mL ⁻¹ |
|----------------------|-------------------------|-------------------|--------------------------|--------------------|---------------------|------------------------------|--|
| | | | mM por 100 mM producidos | | | | |
| DDGS [‡] | 38.37 ^c | 6.74 ^c | 49.46 ^d | 38.25 ^a | 12.27 ^{cd} | 172 ^a | 4.20 |
| Salvado de trigo | 36.80 ^c | 6.86 ^b | 53.33 ^{cd} | 32.85 ^b | 13.80 ^{bc} | 151 ^a | 7.10 |
| Gluten de maíz | 34.43 ^c | 7.01 ^a | 54.19 ^c | 31.29 ^b | 14.50 ^{bc} | 152 ^a | 6.20 |
| Grano de maíz molido | 69.69 ^a | 6.44 ^d | 50.48 ^{cd} | 39.52 ^a | 9.99 ^d | 104 ^b | 5.70 |
| Pasta de soya | 47.60 ^b | 7.04 ^a | 60.41 ^b | 21.19 ^c | 18.39 ^a | 95 ^{bc} | 7.50 |
| Rastrojo de maíz | 36.07 ^c | 6.85 ^b | 65.56 ^a | 18.68 ^c | 15.77 ^{ab} | 77 ^c | 6.80 |
| p | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 | 0.44 |
| EEM ^{‡‡} | 1.17 | 0.02 | 1.04 | 0.78 | 0.68 | 5.23 | 0.10 |

[‡]DDGS: Granos secos de destilería más solubles de maíz; [§]DIVMS: Degradación *in vitro* de la materia seca; [‡]Bact: Conteo total de bacterias; [‡]mM: Concentración molar; ^{‡‡}EEM: Error estándar de la media. ^{a,b,c} Letras diferentes en una columna indican diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$). [‡]DDGS: Dried corn distillers grains with solubles. [§]DIVMS: *In vitro* degradation of dry matter; [‡]Bact: Total bacteria count; [‡]mM: Molar concentration; ^{‡‡}EEM: Standard error of the mean. ^{a,b,c} Different letters in a column indicate a statistically significant difference ($p \leq 0.05$).

para corderos. Al reemplazar la pasta de canola y grano de cebada por 20 % de MS de DDGS de trigo, la DIVMS disminuyó 6.17 %, pero al sustituir por 20 % de MS de DDGS de maíz no hubo diferencias (McKeown *et al.*, 2010).

La concentración de AGV no cambió por la inclusión de DDGS en las dietas, lo cual es similar a lo reportado por Mišta *et al.* (2014), pero McKeown *et al.* (2010) mencionan que con 20 % de la MS de DDGS en dietas para crecimiento de corderos, la concentración de propionato aumentó sin afectar la

AGV concentration. The increase of wheat DDGS in diet decreased the total AGV concentration, and the propionate had a quadratic behavior (Avila-Stagno *et al.*, 2013). According to Pecka Kielb *et al.* (2015), the butyrate molar concentration decreases after 24 h of incubation, since it includes 30 % MS of DDGS in the diet of lambs. Furthermore, including 40 % MS of DDGS in diets for finishing cattle decreases total AGV concentration (Hünerberg *et al.*, 2013). The differences of our results with those of other studies may be caused by the different ingredients used and

concentración de AGV total. El aumento de DDGS de trigo en la dieta disminuyó la concentración total de AGV, y el propionato tuvo un comportamiento cuadrático (Avila-Stagno *et al.*, 2013). Según Pecka-Kielb *et al.* (2015), la concentración molar de butirato disminuye a las 24 h de incubación al incluir 30 % de DDGS de la MS en dietas para borregos. Además, la inclusión de 40 % de MS de DDGS en dietas para finalización de bovinos reduce la concentración total de AGV (Hünerberg *et al.*, 2013). Las diferencias de nuestros resultados con los de otros estudios pueden deberse a los distintos ingredientes utilizados y su fermentación ruminal individual (Cuadro 3), además de los niveles de inclusión de cada ingrediente en las dietas.

El grano de maíz tiene mayor DIVMS que los DDGS de maíz ($p \leq 0.05$). Los DDGS, el salvado de trigo y el gluten de maíz producen una mayor concentración total de AGV ($p \leq 0.05$) y el rastrojo de maíz produce una cantidad menor (Cuadro 3).

El pH (6.7 en promedio) entre tratamientos fue similar ($p > 0.05$). Los resultados de otros estudios son contrastantes, ya que Hünerberg *et al.* (2013) y Pecka-Kielb *et al.* (2015) reportaron disminuciones del pH, pero Avila-Stagno *et al.* (2013) mencionaron un aumento del pH.

Producción de biogás de las dietas experimentales y de los ingredientes utilizados

La producción de gas acumulado es un indicador del grado de fermentación de la MS de las dietas en relación inversa a la digestibilidad. En nuestro estudio, la producción de biogás fue mayor en la dieta con 40 % de DDGS, lo cual coincide con su menor DIVMS (Cuadro 4). Según McKeown *et al.* (2010), la producción de biogás disminuyó 5.96 % al usar 20 % de DDGS de maíz en remplazo de la pasta de canola y parte del grano de cebada en dietas para corderos. El resultado de nuestro estudio es similar, porque al incluir 20 % de DDGS la producción de gas disminuyó 11.37 %, pero con 40 % la producción fue 44.4 % mayor respecto a la dieta testigo y 62.5 % más que la dieta con 20 % de DDGS. Esto pudo deberse a las diferentes proporciones de sustitución del grano de maíz y pasta de soja por DDGS en las dietas, lo que redujo la DIVMS.

Sin embargo la producción individual de biogás de los ingredientes no se refleja en las dietas, pues

their individual rumen fermentation (Table 3), in addition to the levels at which each ingredient was included in the diets.

The corn kernel has higher DIVMS than the corn DDGS ($p \leq 0.05$). DDGS, wheat bran, and corn gluten meal produce a higher total AGV concentration ($p \leq 0.05$), while the corn stover produces a smaller amount (Table 3).

The pH (6.7 average) was similar from one treatment to another ($p > 0.05$). The other studies reached contrasting results: Hünerberg *et al.* (2013) and Pecka-Kielb *et al.* (2015) reported that pH decreased, while Avila-Stagno *et al.* (2013) mentioned that pH increased.

Biogas production of experimental diets and ingredients used

Cumulative gas production is an indicator of the MS fermentation degree of diets in inverse ratio to digestibility. In this study, biogas production was higher in the 40 % DDGS diet, which matches its lower DIVMS (Table 4). According to McKeown *et al.* (2010), biogas production decreased 5.96 % using 20 % corn DDGS to replace all the canola meal and part of the barley grain in the diet of lambs. The results of this study are similar: by including 20 % DDGS, the gas production diminished 11.37 %; but with 40 %, production was 44.4 % higher than control diet, and 62.5 % more than the 20 % DDGS diet. This could be the result of the different proportions in which corn kernel and soybean meal were substituted with DDGS in diets, which reduced the DIVMS.

However, the ingredients' individual biogas production is not reflected in the diets, since corn kernel produces a greater amount of biogas ($p \leq 0.05$) than DDGS and the other ingredients (Table 5).

Production of CH₄ and CO₂ of experimental diets and ingredients used

As expected, the biogas production was higher after a longer fermentation time; however, the biogas production of CH₄ per each 100 mL of produced biogas decreased (22.8 %), and the biogas production of CO₂ increased (13.2 %) in the 40 % DDGS diet in relation to control (Table 6).

Cuadro 4. Producción total acumulada de biogás (mM) en las dietas experimentales.
Table 4. Total cumulative biogas production (mM) in the experimental diets.

| DDGS [‡] , % de MS | Tiempo de fermentación, h (mM [§]) | | |
|-----------------------------|--|------------------|-------------------|
| | 24 | 48 | 72 |
| 0 | 167 ^b | 220 ^b | 255 ^{ab} |
| 20 | 148 ^b | 185 ^b | 199 ^b |
| 40 | 240 ^a | 293 ^a | 309 ^a |
| p | 0.002 | 0.001 | 0.005 |
| EEM [‡] | 11.26 | 11.78 | 14.46 |

[‡]DDGS: Granos secos de destilería más solubles de maíz; [§]mM: Concentración molar; [‡]EEM: Error estándar de la media. ^{a,b} Letras diferentes en una columna indican diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$). [‡]DDGS: Dried corn distillers grains with solubles. [§]mM: Molar concentration; [‡]EEM: Standard error of the mean. ^{a,b} Different letters in a column indicate a statistically significant difference ($p \leq 0.05$).

el grano de maíz produce mayor cantidad de biogás ($p \leq 0.05$) que los DDGS y los otros ingredientes (Cuadro 5).

Producción de CH₄ y CO₂ de las dietas experimentales y de los ingredientes utilizados

Como se esperaba, a mayor tiempo de fermentación la producción de biogás aumentó; sin embargo, la de CH₄ por cada 100 mL de biogás producido dis-

Avila-Stagno *et al.* (2013) reported an increase in CH₄ production when 40 % DDGS was included, and they related this with the DIVMS decrease and the total biogas production increase. According to Pecka-Kiełb *et al.* (2015), the biogas production increases in the diet of lambs with 30 % MS of DDGS, after 24 h of incubation. In our study, the CH₄ production at 72 h was 21.1 % greater in the DDGS-free diet compared to the 20 % DDGS diet, but was similar to the 40 % diet; however,

Cuadro 5. Producción total de biogás (mL) de los ingredientes utilizados en las dietas experimentales.**Table 5. Total biogas production (mL) of the ingredients used in the experimental diets.**

| Ingredientes | Tiempo de fermentación, h | | |
|-------------------|---------------------------|-------------------|------------------|
| | 24 | 48 | 72 |
| Grano de maíz | 483 ^a | 551 ^a | 575 ^a |
| Pasta de soya | 202 ^b | 273 ^b | 286 ^b |
| Rastrojo de maíz | 152 ^b | 235 ^{bc} | 259 ^b |
| Salvado de trigo | 144 ^b | 193 ^{bc} | 226 ^b |
| DDGS [‡] | 131 ^b | 176 ^{bc} | 192 ^b |
| Gluten de maíz | 56 ^b | 97 ^c | 115 ^b |
| p | <0.0001 | <0.0001 | <0.0001 |
| EEM [§] | 35.60 | 35.83 | 37.58 |

[‡]DDGS: Granos secos de destilería más solubles de maíz; [§]EEM: Error estándar de la media. ^{a,b,c} Letras diferentes en una columna indican diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$). [‡]DDGS: Dried corn distillers grains with solubles. [§]EEM: Standard error of the mean. ^{a,b,c} Different letters in a column indicate a statistically significant difference ($p \leq 0.05$).

minuyó (22.8 %), y la de CO₂ aumentó (13.2 %) en la dieta con 40 % de DDGS respecto al testigo (Cuadro 6).

Avila-Stagno *et al.* (2013) reportaron un incremento en la producción de CH₄ al incluir 40 % de DDGS, y lo relacionaron con la disminución de la DIVMS y el aumento en la producción de biogás total. Según Pecka-Kielb *et al.* (2015), la producción de biogás aumenta en dietas para corderos con 30 % de MS de DDGS, después de 24 h de incubación. En nuestro estudio, la producción de CH₄ a las 72 h fue mayor en 21.1 % en la dieta sin DDGS respecto a la de 20 % de DDGS, pero fue similar a la dieta de 40.0 %, pero el CO₂ acumulado fue menor en 22.2 % en la dieta con 20 %, respecto a la dieta con 40.0 % de DDGS (Cuadro 7).

Estos resultados muestran que la producción de gas total aumenta con el tiempo de fermentación en forma inversa a la digestibilidad de las dietas, pero la composición del gas puede variar en las proporciones de CH₄ y CO₂, según los ingredientes usados para formular las dietas. Johnson y Johnson (1995) indicaron que las emisiones de metano expresado como porcentaje del consumo de energía o por kg de MS consumida, son menores en ganado alimentado con dietas altas en concentrado que en forraje. Sin embargo, en nuestro estudio, con 40 % DDGS se redujo 22.8 % la producción de CH₄, respecto a la dieta testigo, pero aumentó 13.1 % la producción de CO₂. La sustitución de grano de maíz y pasta de soya

the cumulative CO₂ was 22.2 % lower in the 20 % DDGS diet, compared to the 40.0 % DDGS diet (Table 7).

These results show that, as total gas production increases, so does the fermentation time, while the digestibility of diets is reduced; however, the CH₄ and CO₂ proportions of gas composition may vary, depending on the ingredients used to prepare the diets. Johnson and Johnson (1995) indicated that methane emissions —expressed as a percentage of energy consumption or per kg of MS consumed— are lower in livestock fed with diets high in concentrate than in fodder. However, in this study, with a 40 % DDGS diet, the CH₄ production was reduced by 22.8 % in relation to the control diet, but CO₂ production increased 13.1 %. Substituting corn kernel and soybean meal with DDGS in diets contributed to the decrease of DIVMS, perhaps as a result of a lower amount of starch and the increase in levels of fat, NDF, and ADF. The methane production of each ingredient indicates that ingredients with high protein content —such as DDGS, soybean meal, and corn gluten— produce more CH₄ at 72 h of incubation (Table 8); however, in fully mixed diets, including 20 % DDGS decreased CH₄ production.

According to Grainger and Beauchemin (2011), the type and level of fat in diet can be the most important factor affecting methanogenesis, and that a 5-6 % increase of fat in diet decreases methane production by 5.1 % in livestock. In this study, the diets had 3.2, 3.7,

Cuadro 6. Producción de CH₄ y CO₂ por cada 100 mL de biogás en las dietas experimentales.
Table 6. Production of CH₄ and CO₂ per each 100 mL of biogas in the experimental diets.

| DDGS [‡] , % de MS | Tiempo de fermentación, h | | | | | |
|-----------------------------|---------------------------|-------|---------------------|----------------------|-------|---------------------|
| | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 |
| | CH ₄ , mL | | | CO ₂ , mL | | |
| 0 | 15.4 | 34.22 | 39.89 ^a | 84.59 | 65.78 | 60.11 ^b |
| 20 | 17.35 | 32.39 | 35.84 ^{ab} | 82.64 | 67.59 | 64.16 ^{ab} |
| 40 | 12.48 | 32.11 | 30.76 ^b | 87.51 | 67.89 | 69.25 ^a |
| P | 0.07 | 0.18 | 0.02 | 0.07 | 0.17 | 0.02 |
| EEM [§] | 1.20 | 0.75 | 1.63 | 1.20 | 0.74 | 1.63 |

[‡]DDGS: Granos secos de destilería más solubles de maíz; [§]EEM: Error estándar de la media. ^{a,b} Letras diferentes en una columna indican diferencia estadísticamente significativa (p≤0.05). [‡]DDGS: Dried corn distillers grains with solubles. [§]EEM: Standard error of the mean. ^{a,b} Different letters in a column indicate a statistically significant difference (p≤0.05).

Cuadro 7. Producción acumulada de CH₄ y CO₂ (mM) de las dietas experimentales.
Table 7. Cumulative production of CH₄ and CO₂ (mM) of experimental diets.

| DDGS [‡] , % de MS | Tiempo de fermentación, h | | | | | |
|-----------------------------|--|-------|---------------------|--|------------------|-------------------|
| | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 |
| | CH ₄ acumulado, mM [§] | | | CO ₂ acumulado, mM [§] | | |
| 0 | 24.13 | 40.83 | 54.54 ^a | 142 ^b | 179 ^b | 201 ^{ab} |
| 20 | 24.44 | 37.48 | 43.08 ^b | 123 ^b | 148 ^b | 156 ^b |
| 40 | 27.75 | 46.34 | 51.99 ^{ab} | 213 ^a | 249 ^a | 260 ^a |
| p | 0.23 | 0.14 | 0.03 | 0.003 | 0.003 | 0.006 |
| EEM [‡] | 1.44 | 2.71 | 2.45 | 11.72 | 12.31 | 14.29 |

[‡]DDGS: Granos secos de destilería más solubles de maíz; [§]mM: Concentración molar; [‡]EEM: Error estándar de la media. ^{a,b} Letras diferentes en una columna indican diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$).
[‡]DDGS: Dried corn distillers grains with solubles. [§]mM: Molar concentration; [‡]EEM: Standard error of the mean. ^{a,b} Different letters in a column indicate a statistically significant difference ($p \leq 0.05$).

por DDGS en las dietas contribuyeron a disminuir la DIVMS, quizás por una menor cantidad de almidón y el aumento en los niveles de grasa, FDN y FDA. La producción de metano de cada ingrediente indica que los ingredientes con alto contenido de proteína, como DDGS, pasta de soya y gluten de maíz, producen más CH₄ a las 72 h de incubación (Cuadro 8); sin embargo, en las dietas totalmente mezcladas la

and 4.5 % fat expressed as ethereal extract—with 0.0, 20, and 40 % DDGS, respectively—, which could have contributed to reduce methane production by 22.8 %, and to increase CO₂ by 6.1 %, in the 40 % DDGS diet, with respect to the control. According to Hünenberg *et al.* (2013), when 40 % barley grain is replaced with corn DDGS, the fat in the diet reached 5.4 %, and CH₄ production was reduced by 6.3 % for every 1 %

Cuadro 8. Producción de CH₄ y CO₂ por 100 mL de biogás de los ingredientes utilizados en las dietas experimentales.

Table 8. Production of CH₄ and CO₂ per 100 mL of biogas from the ingredients used in experimental diets.

| Ingredientes | Tiempo de fermentación, h | | | | | |
|-------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| | 24 | 48 | 72 | 24 | 48 | 72 |
| | CH ₄ , mL | | | CO ₂ , mL | | |
| Grano de maíz | 12.58 ^d | 33.58 ^b | 42.84 ^{bc} | 87.42 ^a | 66.42 ^a | 57.16 ^{bc} |
| Pasta de soya | 25.39 ^{ab} | 42.91 ^a | 54.73 ^a | 74.6 ^{cd} | 57.09 ^b | 45.27 ^d |
| Rastrojo de maíz | 27.54 ^{ab} | 30.66 ^b | 38.91 ^c | 72.46 ^{cd} | 69.34 ^a | 61.09 ^b |
| Salvado de trigo | 21.85 ^{bc} | 35.61 ^{ab} | 29.21 ^d | 78.15 ^{bc} | 64.39 ^{ab} | 70.79 ^a |
| DDGS [‡] | 16.42 ^{cd} | 31.09 ^b | 56.84 ^a | 83.58 ^{ab} | 68.90 ^a | 43.16 ^d |
| Gluten de maíz | 31.47 ^a | 37.93 ^{ab} | 49.21 ^{ab} | 68.53 ^d | 62.07 ^{ab} | 50.79 ^{cd} |
| p | <0.0001 | 0.006 | <0.0001 | <0.0001 | 0.006 | <0.0001 |
| EEM [§] | 1.37 | 1.95 | 1.76 | 1.37 | 1.95 | 1.76 |

[‡]DDGS: Granos secos de destilería más solubles de maíz; [§]EEM: Error estándar de la media. ^{a,b,c} Letras diferentes en una columna indican diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$). [‡]DDGS: Dried corn distillers grains with solubles. [§]EEM: Standard error of the mean. ^{a,b,c} Different letters in a column indicate a statistically significant difference ($p \leq 0.05$).

inclusión de 20 % de DDGS disminuyó la producción de CH₄.

Grainger y Beauchemin (2011) mencionaron que el tipo y nivel de grasa en la dieta puede ser el factor más importante que afecta la metanogénesis, y un aumento de 5 a 6 % de grasa en la dieta disminuye la producción de metano en 5.1 % en el ganado. En nuestro estudio, las dietas tuvieron 3.2, 3.7 y 4.5 % de grasa expresada como extracto etéreo con 0.0, 20 y 40 % DDGS, respectivamente, lo cual pudo contribuir a reducir la producción de metano en 22.8 % y al aumento de CO₂ en la dieta con 40 % DDGS en 6.1 %, respecto al testigo. Según Hünerberg *et al.* (2013), al sustituir 40 % grano de cebada por DDGS de maíz, la grasa en la dieta fue 5.4 % y la producción de CH₄ se redujo en 6.3 % por cada 1 % de la grasa; ellos concluyeron que la producción de CH₄ en respuesta a la adición de DDGS de maíz dependerá directamente del contenido de grasa en los DDGS. Nuestros resultados coinciden con los ya mencionados, al relacionar el aumento de grasa en la dieta con la cantidad de DDGS incorporados en las dietas y la reducción de la producción de CH₄. El contenido de grasa se asocia con la disminución de la digestión ruminal de la MS porque niveles altos de AG son tóxicos para algunas bacterias, como las metanogénicas, y protozoarios. Según Martin *et al.* (2010), esta disminución se relaciona con una baja en la producción de metano en rumen. En nuestro estudio no se determinó la población de protozoarios, pero se realizó un conteo total de bacterias y hubo una disminución de 37 % en la dieta con 40 % DDGS respecto al testigo, lo cual puede indicar el efecto negativo de la grasa en la dieta en la población microbiana, ya que el pH de las dietas fue mayor a 6.5.

CONCLUSIONES

La inclusión de DDGS en las dietas disminuyó la digestibilidad de la MS e incrementó la producción de biogás; sin embargo, la proporción de metano disminuyó y la de bióxido de carbono aumentó al adicionar DDGS en las dietas. Esto se relaciona con la proporción y tipo de ingredientes sustituidos por los DDGS, ya que la composición química de las dietas se modifica. La inclusión de DDGS en dietas para corderos en crecimiento redujo la producción acumulada de metano, sin afectar otras variables de fermentación en el rumen.

of fat; they concluded that CH₄ production—as a result of adding corn DDGS— will depend directly on the fat content in DDGS. The results of this study match those already mentioned: fat increase in diet is related to the amount of DDGS included in the diets and the reduction of CH₄ production. Fat content is associated with the decrease of MS rumen digestion, because high levels of AG are toxic for some bacteria (such as methanogens) and protozoa. According to Martin *et al.* (2010), this decrease is related to a lower methane production in rumen. The protozoa population was not determined in our study; however, a total bacteria count was carried out and their population was 37 % lower in the 40 % DDGS diet, in relation to the control, which may indicate the negative effect of fat in diet on the microbial population, since the pH of the diets was higher than 6.5.

CONCLUSIONS

Including DDGS in diets decreased MS digestibility and increased biogas production; however, by adding DDGS to the diets, the proportion of methane decreased and the proportion of carbon dioxide increased. This is related to the proportion and type of ingredients substituted by DDGS, because the chemical composition of diets is modified. Including DDGS in the diet of growing lambs reduced cumulative methane production, without affecting other fermentation variables in the rumen.

—End of the English version—



LITERATURA CITADA

- Amat, S., S. Hendrick, T. A. McAllister, H. C. Block, and J. J. McKinnon. 2012. Effects of distillers' dried grains with solubles from corn, wheat or a 50:50 corn:wheat blend on performance, carcass characteristics and serum sulphate levels of feedlot steers. *Can. J. Anim. Sci.* 92: 343-351.
- AOAC. 2005. Association of Official Analytical Chemists Official Methods of Analysis, 18th ed. Washington, DC, USA.
- Avila-Stagno, J., A. V. Chaves, M. L. He, and T. A. McAllister. 2013. Increasing concentrations of wheat dry distillers' grains with solubles in iso-nitrogenous finishing diets reduce lamb performance. *Small Rumin. Res.* 114: 10-19.
- Buckner, C. D., T. L. Mader, G. E. Erickson, S. L. Colgan, D. R. Mark, V. R. Bremer, K. K. Karges, and M. L. Gibson. 2008.

- Evaluation of dry distillers grains plus solubles inclusion on performance and economics of finishing beef steers. *Prof. Anim. Sci.* 24: 404-410.
- Cobos, M. A., and M. T. Yokoyama. 1995. *Clostridium paraputrificum* var *ruminantium*: colonization and degradation of shrimp carapaces *in vitro* observed by scanning electron microscopy. The International Livestock Research Institute, Addis Ababa, Ethiopia. pp: 152-161.
- de Vries, M., and I. J. M. de Boer. 2010. Comparing environmental impacts for livestock products: A review of life cycle assessments. *Livest. Sci.* 128: 1-11.
- Depenbusch, B. E., C. M. Coleman, J. J. Higgins, and J. S. Drouillard. 2009. Effects of increasing levels of dried corn distillers grains with solubles on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of yearling heifers. *J. Anim. Sci.* 87: 2653-2663.
- Erwin, E. S., G. J. Marco, and E. M. Emery. 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44: 1768-1771.
- Felix, T. L., H. N. Zerby, S. J. Moeller, and S. C. Loerch. 2012. Effects of increasing dried distillers grains with solubles on performance, carcass characteristics, and digestibility of feedlot lambs. *J. Anim. Sci.* 90: 1356-1363.
- Gerber, P. J., H. Steinfeld, B. Henderson, A. Mottet, C. Opio, J. Dijkman, A. Falcucci, and G. Tempio. 2013. Tackling climate change through livestock: a global assessment of emissions and mitigation opportunities. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome. 115 p.
- Gibb, D. J., X. Hao, and T. A. McAllister. 2008. Effect of dried distillers' grains from wheat on diet digestibility and performance of feedlot cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 88: 659-665.
- Grainger, C., and K. A. Beauchemin. 2011. Can enteric methane emissions from ruminants be lowered without lowering their production? *Anim. Feed Sci. Technol.* 166-167: 308-320.
- Hünerberg, M., S. M. McGinn, K. A. Beauchemin, E. K. Okine, O. M. Harstad, and T. A. McAllister. 2013. Effect of dried distillers' grains with solubles on enteric methane emissions and nitrogen excretion from finishing beef cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 93: 373-385.
- Johnson, K. A., and D. E. Johnson. 1995. Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 73: 2483-2492.
- Klopfenstein, T. J., G. E. Erickson, and V. R. Bremer. 2008. Use of distillers by-products in the beef cattle feeding industry. *J. Anim. Sci.* 86: 1223-1231. doi:10.2527/jas.2007-0550
- Krabill, L. F., W. S. Alhassan, and L. D. Satter. 1969. Manipulation of the ruminal fermentation. 2. Effect of sodium sulfite on bovine digestion and ruminal fermentation. *J. Dairy Sci.* 52: 1812-1816.
- Li, Y. L., T. A. McAllister, K. A. Beauchemin, M. L. He, J. J. McKinnon, and W. Z. Yang. 2011. Substitution of wheat dried distillers grains with solubles for barley grain or barley silage in feedlot cattle diets: Intake, digestibility, and ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.* 89: 2491-2501.
- Martin, C., D. P. Morgavi, and M. Doreau. 2010. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal* 4: 351-365.
- McGinn, S. M., Y. H. Chung, K. A. Beauchemin, A. D. Iwaasa, and C. Grainger. 2009. Use of corn distillers' dried grains to reduce enteric methane loss from beef cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 89: 409-413.
- McKeown, L.E., A. V. Chaves, M. Oba, M. E. R. Dugan, E. Okine, and T. A. McAllister. 2010. Effects of corn-, wheat- or triticale dry distillers' grains with solubles on *in vitro* fermentation, growth performance and carcass traits of lambs. *Can. J. Anim. Sci.* 90: 99-108.
- Mišta, S., E. Pecka, A. Zachwieja, W. Zawadzki, R. Bodarski, K. Paczyńska, J. Tumanowicz, R. Kupczyński, and M. Adamski. 2014. *In vitro* ruminal fluid fermentation as influenced by corn-derived dried distillers' grains with solubles. *Folia Biol. (Praha)* 62: 345-51.
- NRC. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. 384 p.
- O'Mara, F. P. 2011. The significance of livestock as a contributor to global greenhouse gas emissions today and in the near future. *Anim. Feed Sci. Technol. Special Issue: Greenhouse Gases in Animal Agriculture - Finding a Balance between Food and Emissions* 166-167: 7-15.
- Pecka-Kielb, E., W. Zawadzki, A. Zachwieja, O. Michel, M. Mazur, and D. Mišta. 2015. *In vitro* study of the effect of corn dried distillers grains with solubles on rumen fermentation in sheep. *Pol. J. Vet. Sci.* 18: 751-758.
- Posada, S. L., and R. R. Noguera. 2005. *In vitro* gas production technique: A tool for evaluation of ruminant feeds. *Livest. Res. Rural Dev.* 17:
- SAS. Institute Inc. 2011. Statistical Analysis System, SAS, User's Guide: SAS Inst., Cary, NC.
- Schauer, C. S., M. M. Stamm, T. D. Maddock, and P. B. Berg. 2008. Feeding of DDGS in lamb rations. *Sheep Goat Res. J.* 23: 15-19.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.