



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON SEMILLAS DE OLEAGINOSAS
SOBRE LAS EMISIONES DE METANO ENTÉRICO EN VACAS DE LECHERIA
A PASTOREO**

Rodrigo Camilo Villalobos Seelmann

Proyecto de Memoria para optar
al Título Profesional de Médico
Veterinario
Departamento de Fomento de la
Producción Animal

PROFESORA GUÍA: Dra. Camila Muñoz Muñoz
Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) Centro Experimental Remehue

Proyecto Financiado por CONICYT FONDECYT 1151355

SANTIAGO, CHILE
2018



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON SEMILLAS DE OLEAGINOSAS
SOBRE LAS EMISIONES DE METANO ENTÉRICO EN VACAS DE LECHERIA
A PASTOREO**

Rodrigo Camilo Villalobos Seelmann

Proyecto de Memoria para optar
al Título Profesional de Médico
Veterinario
Departamento de Fomento de la
Producción Animal

Nota Final
Prof. Guía
Profesor Corrector
Profesor Corrector

PROFESORA GUÍA: Dra. Camila Muñoz Muñoz
Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) Centro Experimental Remehue

Proyecto Financiado por CONICYT FONDECYT 1151355

SANTIAGO, CHILE
2018

AGRADECIMIENTOS

Quisiera partir agradeciendo a todas las personas que de una u otra forma hicieron posible esta memoria de título. No me puedo dirigir a todos ya que la lista es demasiado larga, pero los tengo en mente y estoy muy agradecido de su compañía y apoyo.

A la Dra. Camila Muñoz por entregarme su confianza y por brindarme apoyo durante todo el ensayo, sin que importara que no me conociera previamente. Gracias por permitirme participar en el experimento y así poder realizar esta memoria de título. Tampoco me puedo olvidar de la valiosa oportunidad que fue presentar en SOCHIPA y trabajar en el proyecto IAEA/FAO.

Al Dr. Emilio Ungerfeld por su aporte al proyecto como co-investigador.

Quisiera agradecerle a la Dra. Sol Morales por guiarme en el proceso de este trabajo y además por guiarme como futuro profesional en estos últimos años. También quisiera agradecerle por la buena disposición que ha tenido no solo durante esta memoria de título, sino que durante toda mi formación profesional.

A Alejandra Peralta por la ayuda que me brindó y por lo que me enseñó en los meses que estuvimos trabajando juntos. No puedo dejar de agradecerle por su buen sentido del humor y grata compañía, incluso cuando trabajábamos bajo la fuerte lluvia o el abrasante sol. Tampoco puedo olvidar las conversaciones que teníamos que sin duda ayudaron a soportar las tareas tediosas. Aun así no es su paciencia o habilidad profesional lo que más agradezco de la Dra. Peralta, sino la amistad que forjamos en este tiempo.

Al personal de INIA Remehue por su apoyo, particularmente a los operarios del sector de lechería por prestarme su ayuda en incontables oportunidades. Quiero agradecerle a Don Carlos Uribe por su paciencia y buena disposición. Aprecio enormemente todas las veces que se tomó el tiempo de movilizarnos dentro del predio incluso durante su horario de almuerzo. A los camperos Victor Manque y José “Huacho” Mancilla por apoyarme en todo lo que necesitáramos. Recuerdo con cariño como este último me decía –a modo de broma– que siempre “lo hacía rabiar”.

Tampoco puedo dejar de mencionar a Albino Villalonco, quien fue un miembro vital del “Team Metano”, no solo por su buena disposición a trabajar sino por su permanente jovialidad. A Gabriel Ojeda por ayudarme con la mejor disposición posible cada vez que necesitaba algo, ya sea para transportar el alimento de las vacas o para enseñarme algo del campo, de la maquinaria que se usa o de alguna otra cosa atingente o no al trabajo. Sobre todo quisiera agradecerles por ofrecerme su amistad y confianza cuando estuve trabajando en INIA Remehue.

Quiero agradecerle a mi familia, especialmente a mis padres Mario Villalobos y Deborah Seelmann, por apoyarme y guiarme en todo sentido. No solo durante el largo proceso que fue realizar esta memoria de título, sino que durante toda mi vida. Sé que tanto para ellos

como para mi está terminando una etapa vital en mi desarrollo, tanto humano como profesional, y estoy feliz de poder terminarla junto a ellos.

A Gabriela Villalobos, Hanne Grunpeter y Gunter Seelmann por estar siempre presentes, por sus palabras de aliento y su sabiduría.

A Isadora Muñoz, quien ha estado conmigo durante todo este proceso, me ha apoyado y dado ánimo cuando más lo he necesitado. Por soportarme cada vez que me quejaba de algo y calmarme cuando estaba enojado. Si bien fue un largo tiempo en el que no nos pudimos ver, el tiempo que estuvo conmigo en Osorno fue valioso y reponedor.

A la Sra. Irma, quien a lo largo de todos estos años me ha apoyado y comprendido –a veces mejor que nadie- llegando a ser un pilar fundamental para mi.

No puedo dejar de lado a mis amigos, Angelo Garcés y Fernando García. Ambos han estado presentes cada vez que necesité un par de manos para alguna tarea pesada o simplemente un par de amigos para pasar el rato. A mi círculo de amigos de Osorno, Alejandra Jiménez, Joaquín Lara, Belén Barra, Paula Pavéz, Sofía Santa Cruz, Marion Rodríguez, Javier Nicul, Andrea Paredes, Manuel Araya, María Paz Rojo, Carolina Ríos y Alejandra Peralta, quienes estuvieron conmigo durante el tiempo que estuve en Osorno y me ofrecieron su ayuda para alivianarme la carga. Estoy muy feliz de haber compartido con todos ustedes durante el tiempo que estuve en Osorno.

A todos quienes estuvieron conmigo de una u otra forma en este proceso, puede que no mencione sus nombres en este texto, pero ellos y ellas saben que les estoy agradecido ya que en algún momento se los he hecho saber.

Gracias a todos.

INDICE DE CAPÍTULOS

RESUMEN/ABSTRACT	1
INTRODUCCIÓN	2
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
Situación lechera regional	3
Los gases de efecto invernadero y el calentamiento global	3
Producción de metano ruminal	3
Técnicas de medición de metano	5
Factores dietarios que afectan la producción de metano en el rumen	6
Suplementación con aceite para disminuir la producción de metano	6
HIPÓTESIS	8
OBJETIVO GENERAL	8
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
MATERIALES Y MÉTODOS	9
Duración	9
Animales	9
Tratamientos y dieta	9
Manejo de pastoreo y consumo de forraje	10
Ordeña	11
Medición de metano	11
Análisis de alimentos	13
Muestreo de leche	13
Análisis estadístico	13
RESULTADOS	14
Composición nutricional de las dietas y consumo de alimento	14
Producción de metano	15
Producción y composición láctea	16
DISCUSIÓN	17
Emisiones de metano	17
Producción y composición láctea	18
CONCLUSION	20
BIBLIOGRAFÍA	21

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición por ingrediente de cada tratamiento expresada en base a materia seca (kg)	10
Tabla 2: Composición nutricional de la pradera y concentrado por tratamiento en los periodos de primavera y verano	14
Tabla 3: Consumo de materia seca (kg/d) de concentrado (individual), pradera (estimado a partir del consumo grupal) y total por tratamiento en los periodos de primavera y verano	15
Tabla 4: Efecto de la suplementación con semillas de oleaginosas sobre las emisiones de CH ₄ absoluto, por unidad de consumo y por unidad productiva	15
Tabla 5: Producción y composición láctea promedio durante periodos de muestreo	16

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Vías de fermentación ruminal	4
Figura 2: Vaca con collar, jáquima y línea de muestreo para la medición de CH ₄ entérico de acuerdo a la técnica SF ₆	12

RESUMEN

El metano (CH_4) un gas de efecto invernadero que contribuye al cambio climático. A nivel global, se han estudiado diferentes estrategias nutricionales para disminuir las emisiones de CH_4 de rumiantes. El objetivo de este experimento fue determinar el efecto de suplementar con semillas oleaginosas sin procesar sobre las emisiones de CH_4 entérico, y producción y composición láctea de vacas lecheras a pastoreo en la zona sur de Chile. El experimento tuvo una duración de 19 semanas cubriendo primavera y verano, y se utilizaron 60 vacas Holstein-Friesian en lactancia temprana divididas en 4 tratamientos: suplementadas con semillas de raps (RAP), algodón (ALG), linaza (LIN) y un grupo control (CON) sin suplementación de semillas. Para medir la producción de CH_4 se utilizó la técnica del gas trazador hexafluoruro de azufre durante 5 días en las semanas 8 (primavera) y 19 (verano) del estudio. En primavera, hubo una tendencia a reducir las emisiones absolutas de CH_4 en el tratamiento ALG. Sin embargo, no hubo diferencias entre tratamientos en rendimiento ni intensidad de emisión de CH_4 . En verano, el tratamiento suplementado con LIN tuvo mayor rendimiento de CH_4 que los otros tratamientos, mientras que CON y LIN tendieron a una menor intensidad de emisión de CH_4 que ALG y RAP. Si bien la producción láctea no se vio afectada durante primavera, la composición láctea sí varió. El grupo LIN tuvo menos grasa láctea que los otros tratamientos y en consecuencia menor porcentaje de sólidos lácteos. Durante el verano, el grupo RAP tuvo menor producción láctea que CON y la proteína láctea fue mayor en el grupo ALG. Estos resultados indican que bajo las condiciones estudiadas, las semillas oleaginosas no son una estrategia viable para reducir las emisiones de CH_4 entérico en el largo plazo.

Palabras clave: Metano, semillas oleaginosas, pastoreo, vacas lecheras

ABSTRACT

Methane (CH_4) is a potent greenhouse gas that contributes to climate change. Globally, different nutritional strategies have been evaluated to decrease CH_4 emissions from ruminants. The objective of this study was to evaluate the effects of unprocessed oilseeds on CH_4 emissions, and milk yield and composition of grazing dairy cows in the south of Chile. Sixty Holstein-Friesian cows in early lactation were used for the study. Treatments were: supplementation of whole rapeseed (RAP), whole cottonseed with lint (CTS), whole linseed (LIN) and control (CON) without oilseed supplementation. The experiment had a duration of 19 weeks over the spring and summer seasons. To measure enteric CH_4 , the sulfur hexafluoride (SF_6) tracer technique was used for 5 consecutive days in weeks 8 and 19 of the study. In spring, there was a tendency for CTS to decrease CH_4 production compared to the other treatments, and there were no effects of treatments on CH_4 yield or intensity. In summer, LIN had the highest CH_4 emission per unit of DM intake compared to the other treatments, and CON and LIN tended to decreased CH_4 intensity compared to CTS and RAP. In spring, milk yield was not affected by treatments, but, LIN had the lowest milk fat and milk solids concentrations. In summer, RAP decreased milk yield and CTS increased milk protein content, compared to CON. In conclusion, long term supplementation of grazing dairy cows with unprocessed oilseeds is not a viable strategy to reduce CH_4 emissions.

Key words: Methane, oilseeds, grazing, dairy cattle.

INTRODUCCIÓN

La producción animal aporta una parte importante del alimento consumido a nivel mundial, pero también contribuye al calentamiento global mediante su aporte de gases de efecto invernadero (GEI). De acuerdo a FAO (s.f.), la ganadería aporta el 14,5% de los GEI de origen antropogénico y la producción bovina representa el 65% de este aporte, lo que se traduce en 4600 millones de toneladas de CO₂-eq por año. Este aporte se distribuye entre óxido nitroso (N₂O), dióxido de carbono (CO₂) y metano (CH₄), siendo este último 34 veces más potente que el dióxido de carbono en cuanto a su potencial de calentamiento global.

A la problemática ambiental se suma que la producción de CH₄ implica una pérdida de la energía bruta ingerida por el animal, dado que este gas es un desecho metabólico, no siendo utilizado por el individuo ni por la flora ruminal. Por lo anteriormente señalado, existe interés de reducir las emisiones de CH₄ de los sistemas productivos ganaderos.

Diversos autores (Carmona *et al.*, 2005; Palmquist y Jenkins, 2017) han reportado distintas estrategias nutricionales para enfrentar este problema en rumiantes. Entre las estrategias efectivas para reducir CH₄, se pueden mencionar el uso de alimentos con alto contenido de lípidos y de ionóforos, la defaunación protozoaria ruminal y seleccionando animales de alto mérito productivo para reducir la producción de CH₄ por kilogramo de leche o carne.

Este estudio pretende evaluar el efecto de 3 semillas de oleaginosas (raps, linaza y algodón) utilizadas sin procesar sobre la producción de CH₄ entérico y producción láctea de un rebaño de vacas lecheras en pastoreo. Si bien existen antecedentes en la literatura sobre el uso de aceites en la dieta y su efecto mitigador sobre la producción de CH₄ (Grainger *et al.*, 2010; Brask *et al.*, 2013; Martin *et al.*, 2015), dichos estudios fueron realizados en sistemas intensivos bajo confinamiento. Hay pocos antecedentes en sistemas pastoriles. Los sistemas de pastoreo son los predominantes en la zona sur de Chile, que es la principal zona productora de leche del país. Además, el presente estudio tuvo una duración de 19 semanas, permitiendo evaluar dos periodos por separado, aspecto que es importante a considerar puesto que la información disponible se refiere a estudios de corta duración. Dado que la técnica SF₆ no altera el normal comportamiento de los animales, es de bajo costo relativo a otros métodos y sus resultados son comparables a otros métodos descritos en la literatura, es el método de elección para este tipo de estudios (Johnson *et al.*, 2007).

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Situación lechera regional

Según ODEPA (s.f.) el año 2017 la recepción de leche en planta a nivel nacional fue de 2.115 millones de litros. Esta producción se concentra principalmente en las regiones de Los Ríos y Los Lagos con el 49,3% y 30,3% respectivamente. Estos sistemas se caracterizan por que el principal alimento utilizado para la producción es la pradera, la que es suplementada en épocas estratégicas con ensilajes, y granos o concentrados, entre otros (Agrosur GESTA, 2012).

Los gases de efecto invernadero y el calentamiento global

El CO₂, CH₄, N₂O y los halocarburos u otros gases fluorados son GEI presentes en la atmosfera. Estos gases atrapan radiación solar aumentando la temperatura superficial y atmosférica de la tierra. A nivel global, las fuentes naturales de CH₄ representan el 42% de las emisiones totales, siendo el 58% ocasionado por fuentes antropogénicas (Knapp *et al.*, 2014). De acuerdo a FAO (s.f.), la cadena productiva del sector ganadero emite 4,6 gigatoneladas de CO₂ equivalente (CO₂ -eq) por año, lo que representa el 9,4% de los GEI producidos por el hombre, siendo la industria lechera responsable del 46% de estas emisiones. Si se desglosa esta emisión de GEI, la mayor producción es CH₄ por fermentación ruminal (44%), seguida por alimentación (41%) y manejo de purín (10%). Se debe señalar que en estos cálculos se consideran todos los GEI ponderados por su potencial de calentamiento global en relación al CO₂ (CO₂ equivalente) (FAO, s.f.).

Este es un tema de particular importancia dado que los GEI han ido en aumento, tanto así que se registran los niveles más altos de los últimos 800.000 años, siendo el CH₄ el que más ha aumentado (150%) desde el año 1750 (IPCC, 2014). De la misma manera la temperatura de la tierra ha ido en aumento en las últimas décadas. Se estima que estas últimas tres décadas han sido las más calurosas en los últimos 1400 años (IPCC, 2014).

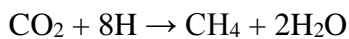
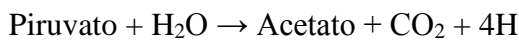
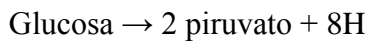
Producción de metano ruminal

Grudsky y Arias (1983) indican que el CH₄ no puede ser aprovechado por el animal, ni por su flora ruminal ni entérica, y por ende representa energía alimentaria que se pierde a la atmósfera. Johnson *et al.* (1993) cuantificaron estas pérdidas en el rango de 2 a 12% de la energía bruta ingerida.

El CH₄ es producido en el rumen por Archeas, un grupo especializado de microorganismos anaerobios obligados. El CH₄ es producto del proceso de fermentación anaeróbica ruminal de carbohidratos solubles y estructurales, siendo estos últimos los más abundantes en dietas basadas en forraje (Carmona *et al.*, 2005).

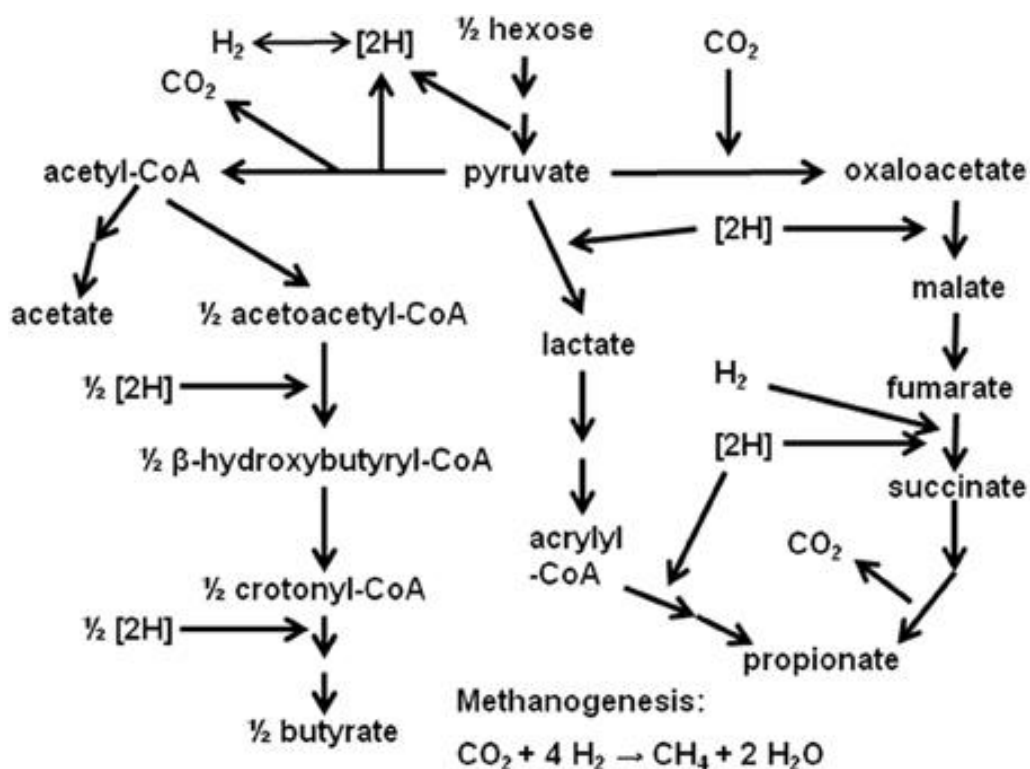
Para producir CH₄, las archeas metanogénicas requieren dihidrógeno (H₂), el cual es obtenido mediante la fermentación de glucosa a acetato cuya estequiometría es resumida por Moss *et al.* (2000) de la siguiente manera:

Reacciones productoras de CH₄:



La producción de propionato requiere la incorporación de 2H para su formación. Al formarse propionato, disminuirá la disponibilidad del 2H para ser usado en la vía metanogénica. En contraste, las vías metabólicas del acetato y butirato, liberan H₂ quedando disponible para la formación de CH₄. Las cantidades de 2H liberadas por el acetato y el butirato son distintas, determinando que el butirato conlleve menor producción de CH₄ que el acetato (Figura 1).

Figura 1: Vías de fermentación ruminal (Ungerfeld, 2013)



Técnicas de medición de metano

El 87% de la producción de CH₄ se genera en el rumen y 13% en el tracto digestivo posterior (McCaughey *et al.*, 1999). De este último, aproximadamente el 89% es absorbido hacia la sangre y espirado a través de los pulmones. En consecuencia, cerca del 98% del total de CH₄ producido por los rumiantes es eliminado a través del eructo y la respiración.

Existen varios métodos para medir la producción de CH₄. Estos incluyen las técnicas cerradas de medición de gases, el uso de trazadores, las ecuaciones predictivas y las mediciones *in vitro* con elementos tipo rumen artificial, entre otras (Carmona *et al.*, 2005). Las técnicas cerradas consideran las cámaras calorimétricas o de respiración, y las máscaras faciales o capuchas ventiladas. En estos casos, las emisiones de CH₄ son determinadas por la diferencia entre el aire inspirado y espirado teniendo en cuenta el flujo de aire del sistema. Estos métodos, en particular la cámara de respiración, tienen la ventaja de medir la totalidad del CH₄ producido de forma directa y se considera como el ‘estándar de oro’ o medición de referencia de CH₄ entérico. Sus desventajas son los altos costos tanto de construcción y mantención de las cámaras, como los asociados a mantener a los animales en confinamiento y/o con restricción de movimiento.

En cuanto a las técnicas basadas en la estimación de CH₄ con el uso de trazadores, la principal es la técnica basada en el hexafloruro de azufre (SF₆). Otras técnicas utilizan trazadores como el CO₂ o isótopos tales como [³H-]metano y [¹⁴C-]metano (Carmona *et al.*, 2005). La principal ventaja del uso de trazadores es que no interfieren con las conductas naturales de los animales, ni con el pastoreo, teniendo menor costo de implementación y mantención respecto a las técnicas mencionadas anteriormente (Carmona *et al.*, 2005). El gas SF₆ tiene propiedades de gran utilidad para ensayos *in vivo* de medición de CH₄. Es un gas no reactivo, presenta una toxicidad muy baja -casi nula- al inhalar y no es inflamable ni explosivo (National Center for Biotechnology Information, s.f.). A pesar de que es un gas asfixiante, este riesgo es para fines prácticos inexistente por las bajas cantidades que se usan en investigaciones de este tipo. La precisión de la medición de CH₄ con esta técnica es comparable a la obtenida con cámaras de respiración (Muñoz *et al.*, 2012).

Factores dietarios que afectan la producción de metano en el rumen

Las emisiones de CH₄ se pueden expresar en forma absoluta (g/d), por unidad de consumo (g/kg materia seca) o por unidad de producción (g/kg leche por ejemplo). La principal determinante de la producción de CH₄ ruminal es la ingesta de materia seca (MS) (Knapp *et al.*, 2014), donde la variación en la ingesta de MS explica entre 52% y 64% de la producción de CH₄. Así, al aumentar la cantidad de MS consumida, aumenta la cantidad de CH₄ total emitido. Sin embargo, la producción de CH₄ por kilo de leche o por unidad de energía consumida disminuye a medida que se incrementa la MS ingerida por sobre el requerimiento de mantención (Knapp *et al.*, 2014).

La producción de CH₄ también varía según el tipo de alimento. Por ejemplo, la adición de alimento concentrado de alto valor energético disminuye el rendimiento de CH₄ comparado con dietas con mayor proporción de forrajes (Sauvant y Giger-Reverdin, 2007). Esto, porque la adición de concentrado en la dieta disminuye la proporción de acetato:propionato ruminal.

Si bien los protozoos no producen CH₄ de forma directa, las archeas metanógenas son simbióticas con los protozoos, existiendo transferencia de H₂ entre las especies (Carmona *et al.*, 2005). Diversos estudios han demostrado que la defaunación de protozoos reduce la producción de CH₄ entre 11% y 13% (Morgavi *et al.*, 2010; Newbold *et al.*, 2015), aun así otros autores no han encontrado diferencias (Popova *et al.*, 2011; Hristov *et al.*, 2011).

Otros métodos dietarios para reducir las emisiones han sido estudiados. Entre estos se encuentra la adición de nitrato a la dieta. Si bien nitrato tiene un gran potencial como inhibidor de CH₄, no hay suficiente información sobre sus efectos a largo plazo y la potencial toxicidad de su metabolito intermediario, el nitrito. Los ionóforos, especialmente la monesina, han sido estudiados, lamentablemente a pesar de ser seguros para el animal y el ambiente su potencial de reducción de emisión es bajo (5%) y no se ha estudiado de forma conclusiva su efecto a largo plazo. Un método de gran impacto es el suministro de forraje con alta digestibilidad ya que tiene el potencial de disminuir la producción de CH₄ de forma absoluta y en función a la materia seca consumida (Hristov *et al.*, 2013).

Suplementación con aceite para disminuir la producción de metano

La adición dietaria de lípidos es una estrategia nutricional en estudio para disminuir las emisiones de CH₄. Los mecanismos mediante el cual la adición dietaria de semillas de

oleaginosas como el algodón, linaza o raps reducen la producción de CH₄ incluyen el efecto tóxico que tienen los ácidos grasos insaturados sobre las bacterias celulolíticas y poblaciones protozoarias y metanogénicas, la disminución de la materia orgánica fermentable en el rumen y, en menor medida, la biohidrogenación de ácidos grasos (Martin *et al.*, 2009).

En ensayos anteriores, la adición de semillas de algodón disminuyó la producción de CH₄ diaria en vacas lecheras en 23% (Grainger *et al.*, 2010), mientras que adicionar linaza la disminuyó en 11,6% (Martin *et al.*, 2015). En un estudio hecho por Brask *et al.* (2013) la producción diaria de CH₄ se redujo en 16% al entregar raps partido a un grupo de vacas.

Las semillas oleaginosas contienen aceites con una alta proporción de ácidos grasos insaturados. El ácido graso preponderante en la semilla de algodón es el ácido linoleico (C18:2; 52,5%; Dowd *et al.*, 2010). En la linaza, predomina el ácido linolénico (C18:3; 55,7%; Heuzé *et al.*, 2015), mientras que en el raps, el ácido oleico (C18:1) es el predominante (59,9%; Heuzé *et al.*, 2016). El uso de diversas fuentes de aceites en el presente ensayo con diversos grados de insaturación, permitirá evaluar el efecto de distintos grados de insaturación sobre las emisiones de metano. Al ser la linaza la semilla con mayor cantidad de insaturaciones, se espera que esta sea la que tenga el mayor impacto sobre las emisiones de CH₄ (Martin *et al.*, 2009).

Un punto a considerar al agregar lípidos a la dieta son sus posibles efectos deletéreos. Entre los diversos efectos no deseados se encuentran el síndrome de depresión de grasa láctea por exceso de ácidos grasos insaturados (Salado *et al.*, 2015), la disminución del consumo de materia seca, la disminución en la digestibilidad de la fibra, entre otros (Palmquist y Jenkins, 2017).

HIPÓTESIS

La inclusión de semillas oleaginosas sin procesar en la dieta de vacas lecheras a pastoreo disminuirá las emisiones de CH₄ entérico, sin afectar la producción de leche y de componentes lácteos.

Como hipótesis alternativa se plantea que la inclusión de semillas oleaginosas sin procesar en la dieta de vacas lecheras a pastoreo no modificará las emisiones de CH₄ entérico ni se verá afectada la producción de leche y sus componentes lácteos.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la suplementación con semillas de oleaginosas sin procesar sobre la producción de CH₄ ruminal y desempeño productivo de vacas lecheras a pastoreo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Establecer el efecto de la adición dietaria de semillas de linaza, algodón y raps sin procesar sobre la producción de CH₄ entérico de vacas lecheras a pastoreo.
2. Establecer el efecto de la adición dietaria de semillas de linaza, algodón y raps sin procesar sobre la producción y composición de leche de vacas lecheras a pastoreo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento fue realizado en el Centro Experimental Remehue, perteneciente al Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA Remehue, ubicado en Osorno, Chile, coordenadas 40°31'S 73°03'O y a 65 msnm.

Duración

El experimento tuvo una duración de 19 semanas a partir de octubre de 2016. Se dividió en dos períodos que fueron llamados: primavera y verano. Dentro de cada periodo existió una semana para la medición de CH₄ y de producción y composición de leche, siendo los periodos de medición durante la semana 8 y 19.

Animales

El grupo a estudiar estuvo compuesto por 60 vacas Holstein Friesian en inicio de lactancia (43,5 ± 12 días en leche al inicio del estudio) con una producción promedio de 6.000 litros de leche en la lactancia anterior. Los animales fueron bloqueados en grupos de 4 de acuerdo a los días en leche, producción de leche, número ordinal de parto y peso vivo. Dentro de cada bloque, los animales fueron asignados al azar a uno de los 4 tratamientos. Se excluyeron de la selección los animales con cuernos, cojeras, u otras características indeseables. El mínimo recomendado para este tipo de estudios es 12 vacas por tratamiento (Berndt *et al.*, 2014), tomando en consideración la disponibilidad de animales utilizables del rebaño comercial de INIA Remehue se decidió aumentar este número para reducir aún más la incertidumbre.

Tratamientos y dieta

El ensayo contempló 4 tratamientos: concentrado en base a maíz roleado y torta de raps, sin inclusión de semillas de oleaginosa (dieta control; CON), concentrado con semilla de algodón (ALG), concentrado con semilla de raps (RAP) y concentrado con semilla de linaza (LIN). La proporción de ingredientes de los tratamientos en los periodos de primavera y verano se muestra en la Tabla 1.

Las vacas fueron alimentadas con pradera a pastoreo y suplementadas con los tratamientos indicados. Las semillas oleaginosas fueron entregadas enteras (sin procesar) y mezcladas con el concentrado. Cada vaca recibió su tratamiento de forma individual dividido en dos

raciones entregadas durante la ordeña. Los animales consumieron la totalidad del concentrado en la sala de ordeña.

Tabla 1. Composición por ingrediente de cada tratamiento expresada en base a materia seca (kg)

Dieta	Tratamiento ¹			
	CON	ALG	RAP	LIN
PRIMAVERA				
Maíz roleadado	4,40	2,30	2,58	2,87
Semilla oleaginosa	0,00	2,34	0,81	0,84
Torta de raps	0,72	0,00	0,54	0,36
Sales minerales ²	0,20	0,20	0,20	0,20
VERANO				
Maíz roleadado	2,80	1,80	2,01	2,23
Semilla oleaginosa	0,00	1,80	0,72	0,66
Torta de raps	0,54	0,00	0,45	0,27
Sales minerales ²	0,20	0,20	0,20	0,20

¹Suplemento concentrado sin adición de lípidos (CON), con adición de semilla de linaza sin procesar (LIN), de raps sin procesar (RAP) y algodón sin procesar (ALG).

²Vetersal Rio Bueno (Veterquímica, Osorno, Chile).

Al inicio del ensayo, la formulación del alimento concentrado se realizó con el software NRC Dairy para vacas de 550 kg en inicio de lactancia, con una producción de 28 kg leche/día, 3,5% y 3,1% de grasa y proteína láctea, respectivamente. Durante el ensayo, la formulación del alimento concentrado fue modificada de manera gradual a partir de la semana 14 del ensayo hacia el concentrado de verano para ajustarse a los cambios en requerimientos energéticos y proteicos de los animales. Los concentrados fueron formulados para proveer cantidades similares de energía (~14,3 Mcal EM/d), proteína (0,66 kg PC/d) y ácidos grasos (AG; ~470 g AG/d) a excepción del tratamiento control que proveía solo 170 g AG/d en primavera. En verano los valores fueron de 10,7 Mcal EM/d y 0,57 kg PC/d, y alrededor de 370 y 120 g AG/d para los tratamientos de oleaginosas y CON, respectivamente.

Manejo de pastoreo y consumo de forraje

La pradera utilizada en el ensayo correspondió a pradera mixta sin riego con predominio de ballica perenne (*Lolium perenne L*), la que fue pastoreada en sistema rotativo en franjas usando cerco eléctrico. Cada tratamiento tuvo potreros independientes.

La superficie diaria de cada franja fue calculada en base a la disponibilidad de pradera pre-pastoreo y a la cantidad de MS estimada a consumir por el grupo de vacas, y fue ajustada diariamente en base al rezago dejado por cada grupo el día anterior.

La altura de entrada objetivo del ensayo fue de 11 a 12 cm de altura comprimida medido con plato forrajero, o su equivalente de 2.600 a 2.800 kg MS/há. La altura de rezago (post-pastoreo) objetivo fue de 4,5 a 6,5 cm de altura comprimida o 1.300 a 1.700 kg MS/há.

El consumo de forraje individual fue calculado mediante la diferencia entre la oferta grupal de pradera y el rezago dividido en la cantidad de vacas en cada grupo.

Ordeña

El rebaño experimental fue ordeñado dos veces al día (AM y PM). Durante la rutina de ordeña la producción láctea se registró de forma automática utilizando el sistema ALPRO (DeLaval) y con los datos obtenidos se generó un promedio semanal para cada vaca.

Medición de metano

Cada período de medición tuvo una duración de 5 días. En estos periodos, se realizaron mediciones diarias individuales y ambientales de las emisiones de CH₄ entérico de las vacas en estudio utilizando la técnica de SF₆ descrita por Muñoz *et al.* (2012). El número de muestras tomadas son suficientes para reducir la variabilidad de cada vaca a niveles aceptables sin encarecer injustificadamente el experimento.

En primavera, a cada vaca se le dio un tubo de permeación con gas SF₆ con una tasa de permeación conocida ($4,19 \pm 0,28$ mg SF₆/d). Esta tasa fue obtenida mediante un pesaje seriado realizado dos veces por semana durante 8 semanas previas al ensayo. Para lograr una tasa de permeación similar a la del ambiente ruminal, los tubos fueron mantenidos a 39°C en una incubadora. Una vez terminada esta etapa, los tubos fueron divididos en grupos de 4 de acuerdo a su tasa de permeación y asignados al azar a los bloques de vacas.

Para obtener las muestras de CH₄ se usaron sistemas de medición que consisten en un collar, una línea de muestreo y una jáquima. Los collares fueron fabricados de PVC hidráulico. La línea de muestreo consistió en un conector macho que mediante una manguera de nylon llega a un capilar que restringe el paso del aire y luego a un filtro de aire. La línea de muestreo fue fijada mediante amarra cables sobre las jáquimas especialmente confeccionadas para el experimento (Figura 2).

Figura 2: Vaca con collar, jáquima y línea de muestreo para la medición de CH₄ entérico de acuerdo a la técnica SF₆.



El primer día de cada semana de muestreo se le asignó al azar una jáquima con su respectiva línea de muestreo a cada vaca. Cada vaca utilizó un collar al vacío durante 24 horas, el cual fue reemplazado por otro al día siguiente.

Se llevó un registro del número de la vaca, de la jáquima asignado, al igual que el collar usado durante ese día, la hora a la que fue conectado a la línea de muestreo, la hora en la que fue desconectado, la presión de inicio y de desconexión (medida en terreno con un manómetro portátil), y cualquier observación que se deseó hacer.

Los collares con muestra fueron llevados al laboratorio donde se les midió una segunda vez la presión, esta vez con un manómetro digital (ExTech 407910), para luego ser presurizados a aproximadamente 200 mbar sobre presión atmosférica con nitrógeno (N₂). Posteriormente, los collares se dejaron reposar por al menos una hora para permitir la mezcla de los gases. Los collares fueron sub-muestreados a cuatro viales de vidrio de 30 mL previamente evacuados, dos viales fueron para análisis y dos fueron guardados como respaldo. Cada sub-muestra fue de ~60 cc.

Por cromatografía gaseosa, el CH₄ fue detectado mediante ionización de llama (FID) y el SF₆ fue detectado utilizando la técnica de captura de electrones (ECD). Las especificaciones técnicas del cromatógrafo han sido descritas en detalle en Muñoz *et al.*, (2015).

Para identificar niveles ambientales de CH₄ y SF₆ durante los períodos de muestreo se dispuso de un collar ambiental por grupo por día. Cada collar ambiental fue submuestreado de acuerdo al protocolo anteriormente descrito.

Análisis de alimentos

Durante los períodos de muestreo, diariamente se tomaron muestras de los ingredientes del alimento concentrado a partir de las cuales se hizo una muestra compuesta. También se tomaron tres muestras de 0,5 m² de pradera por cada grupo experimental, las que fueron secadas (60°C por 48 h), molidas y luego agrupadas en una sola muestra compuesta por tratamiento. Todas estas muestras fueron ingresadas al Laboratorio de Nutrición Animal y Ambiente de INIA Remehue para determinar MS, proteína cruda (PC), energía metabolizable (EM), fibra detergente neutro (FDN) y extracto etéreo (EE). Las muestras fueron analizadas en base a los procedimientos descritos por AOAC International (1995).

Muestreo de leche

Una vez por semana se tomó una muestra compuesta (ordeña AM y ordeña PM) de leche por vaca para determinar el contenido de proteína, grasa, lactosa y sólidos totales. Esta muestra fue analizada por el Laboratorio de Calidad de Leche de INIA Carillanca utilizando un espectrofotómetro infrarrojo (MilkoScan 4000, Foss).

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el programa JMP 11 (SAS Institute Inc.). Los datos de CH₄, y producción y composición de leche, se analizaron inicialmente mediante un análisis de varianza incluyendo los efectos fijos del tratamiento y el efecto aleatorio del bloque de vacas de acuerdo al siguiente modelo:

$$\text{Respuesta}_{ijk} = \text{intercepto} + \text{tratamiento}_i + \text{bloque}_j + \text{residual}_{ijk}$$

Donde, *i* corresponde al tratamiento CON, LIN, RAP o ALG, y *j* corresponde a cada bloque de vacas. Dado que el efecto bloque no fue significativo, este fue removido del modelo quedando el análisis como ANOVA de 1 vía:

$$\text{Respuesta}_{ij} = \text{intercepto} + \text{tratamiento}_i + \text{residual}_{ij}$$

Las emisiones de CH₄ fueron expresadas como medias semanales de CH₄ absoluto (g CH₄/día), CH₄ por unidad de consumo (g CH₄/kg MS) y CH₄ por unidad de producción láctea (g CH₄/kg leche).

RESULTADOS

Composición nutricional de las dietas y consumo de alimento

La composición nutricional de los componentes de la dieta se presenta en la Tabla 2. La composición química de la pradera no varió en forma importante entre tratamientos.

Tabla 2. Composición nutricional de la pradera y concentrado por tratamiento en los periodos de primavera y verano

Item ²	Tratamiento ¹			
	CON	ALG	RAP	LIN
PRIMAVERA				
Pradera				
EE (%)	3,6	3,3	3,1	3,8
PC (%)	20,5	23,8	18,4	26,2
FDN (%)	45,7	45,5	45,4	39,8
EM (Mcal/kg)	2,77	2,72	2,65	2,82
Concentrado				
E.E. (%)	4,2	10,1	11,6	10,4
P.C. (%)	10,1	12,3	11,2	10,5
FDN (%)	8,5	22,7	10,7	8,8
E.M. (Mcal/kg)	3,18	2,68	3,12	3,12
VERANO				
Pradera				
EE (%)	3,1	3,3	3,9	3,2
PC (%)	14,8	16,0	12,5	19,4
FDN (%)	52,0	48,3	44,7	48,9
EM (Mcal/kg)	2,41	2,57	2,66	2,52
Concentrado				
E.E. (%)	4,5	10,4	12,5	10,7
P.C. (%)	10,2	13,9	11,7	10,5
FDN (%)	8,7	21,5	10,9	9,3
E.M. (Mcal/kg)	3,15	2,65	3,09	3,09

¹Suplemento concentrado sin adición de lípidos (CON), con adición de semilla de linaza sin procesar (LIN), de raps sin procesar (RAP) y algodón sin procesar (ALG).

²EE: Extracto etéreo, PC: Proteína cruda, FDN: Fibra neutro detergente, EM: Energía metabolizable, MS: Materia seca

Los consumos de pradera, individuales de concentrado y total se presentan en la Tabla 3. En términos absolutos, el tratamiento CON resultó en la mayor ingesta de MS total en ambos períodos, mientras que los tratamientos RAP y LIN presentaron el menor consumo en primavera y verano, respectivamente.

Tabla 3. Consumo de materia seca (kg/d) de concentrado (individual), pradera (estimado a partir del consumo grupal) y total por tratamiento en los periodos de primavera y verano

Item	Tratamiento ¹			
	CON	ALG	RAP	LIN
PRIMAVERA				
Concentrado	5,1	5,2	4,6	4,8
Pradera	12,2	10,1	9,7	11,5
Total	17,3	15,3	14,3	16,3
VERANO				
Concentrado	4,1	4,1	3,8	3,8
Pradera	17,2	14,6	16,1	10,7
Total	21,3	18,7	19,9	14,5

¹Suplemento concentrado sin adición de lípidos (CON), con adición de semilla de linaza sin procesar (LIN), de raps sin procesar (RAP) y algodón sin procesar (ALG).

Producción de metano

En la Tabla 4 se muestran los efectos de la suplementación con semillas de oleaginosas sobre las emisiones de CH₄ entérico. En primavera, hubo una tendencia a un menor ($P = 0,09$) emisión de CH₄ absoluto en el tratamiento ALG comparada con CON o LIN. Sin embargo, no hubo diferencias entre tratamientos en la producción de CH₄ por unidad de consumo ($P = 0,23$) o producción de leche ($P = 0,31$).

En verano, no hubo diferencias ($P = 0,51$) entre tratamientos en la producción de CH₄ diario. El tratamiento LIN produjo más ($P < 0,001$) CH₄ por kg de MS consumida que los otros tratamientos. El tratamiento CON produjo menos CH₄ por unidad de ingesta que el ALG, y tuvo una tendencia, junto con LIN, a disminuir ($P = 0,08$) la producción de CH₄ por kilo de leche.

Tabla 4. Efecto de la suplementación con semillas de oleaginosas sobre las emisiones de CH₄ absoluto, por unidad de consumo y por unidad productiva

	Tratamiento ¹				EE ²	P =
	CON	ALG	RAP	LIN		
PRIMAVERA						
CH ₄ (g/d)	425	364	397	416	17,8	0,09
CH ₄ (g/kg MS ingerida)	24,4	23,6	26,7	24,7	1,09	0,23
CH ₄ (g/kg leche)	17,1	15,7	17,9	16,0	0,94	0,31
VERANO						
CH ₄ (g/d)	486	502	470	472	28,9	0,51
CH ₄ (g/kg MS ingerida)	22,0 ^c	26,4 ^b	23,4 ^{bc}	31,8 ^a	0,91	<0,001
CH ₄ (g/kg leche)	22,7	25,5	25,9	22,3	1,86	0,08

¹Suplemento concentrado sin adición de lípidos (CON), con adición de semilla de linaza sin procesar (LIN), de raps sin procesar (RAP) y algodón sin procesar (ALG).

²EE: error estándar.

Producción y composición láctea

La Tabla 5 muestra los efectos de las semillas de oleaginosas sobre la producción y composición de leche en los periodos de medición. En primavera, no hubo diferencias ($P = 0,14$) entre tratamientos en producción de leche, pero el porcentaje de grasa láctea fue menor ($P = 0,02$) en el tratamiento LIN que en los tratamientos CON y ALG. La proteína láctea no presentó diferencias entre tratamientos ($P = 0,27$) durante este período. Los sólidos totales fueron menores ($P = 0,04$) en el tratamiento LIN en comparación a ALG, pero no fueron diferentes de CON o RAP.

En verano, el grupo CON tuvo mayor ($P = 0,05$) producción de leche que RAP, pero no fue diferente de los otros dos tratamientos. No hubo diferencias entre tratamientos en el contenido de grasa láctea ($P = 0,7$), ni sólidos totales ($P = 0,62$). La proteína láctea fue mayor ($P = 0,02$) en el tratamiento ALG que en el CON, pero no fue diferente de RAP o LIN.

Tabla 5. Producción y composición láctea promedio durante periodos de muestreo

	Tratamiento ¹				EE ²	P =
	CON	ALG	RAP	LIN		
PRIMAVERA						
Producción láctea (kg/d)	24,8	22,8	22,1	25,4	1,84	0,14
Grasa láctea (%)	3,69 ^a	3,76 ^a	3,67 ^{ab}	3,09 ^b	0,25	0,02
Proteína láctea (%)	3,44	3,49	3,3	3,35	0,12	0,27
Lactosa láctea (%)	5,01	5,05	4,99	5,06	0,06	0,46
Sólidos lácteos (%)	13,6 ^{ab}	13,8 ^a	13,4 ^{ab}	12,9 ^b	0,35	0,04
VERANO						
Producción láctea (kg/d)	21,4 ^a	20,1 ^{ab}	17,4 ^b	18,6 ^{ab}	1,63	0,05
Grasa láctea (%)	4,30	4,23	4,34	4,49	0,244	0,70
Proteína láctea (%)	3,45 ^b	3,72 ^a	3,52 ^{ab}	3,54 ^{ab}	0,096	0,02
Lactosa láctea (%)	4,73	4,80	4,88	4,78	0,063	0,07
Sólidos lácteos (%)	13,95	14,24	14,23	14,31	0,316	0,62

¹Suplemento concentrado sin adición de lípidos (CON), con adición de semilla de linaza sin procesar (LIN), de raps sin procesar (RAP) y algodón sin procesar (ALG).

²EE: Desviación estándar.

DISCUSIÓN

Emisiones de metano

Los valores de emisión de CH₄ medidos en el presente estudio son comparables con otros estudios a pastoreo con vacas lecheras (Johnson *et al.*, 2002; Ulyatt *et al.*, 2002; Grainger *et al.*, 2010). En nuestro estudio, el periodo verano tuvo una producción numérica de CH₄ en términos absolutos 13% mayor que el periodo primavera. Esto puede ser atribuible al estado fenológico de las praderas en ambas temporadas, ya que la pradera en estado vegetativo (primavera) tienen mayores niveles de EM, PC y menores niveles de fibra que praderas en estado reproductivo (verano). El aumento de paredes celulares durante el verano aumenta la proporción de acetato e hidrógeno en el rumen (Hristov *et al.*, 2013), lo que lleva a un aumento en la síntesis de CH₄. Robertson y Waghorn (2002) observaron en verano un aumento de CH₄ como proporción de la energía bruta ingerida al comparar forraje en primavera y verano.

En el periodo primavera, si bien no hubo diferencias entre grupos en CH₄ producido por unidad de consumo ni por unidad productiva, la suplementación con ALG tendió a disminuir la producción de CH₄ diario comparado con los otros tratamientos. Este resultado es concordante con trabajos anteriores en vacas lecheras en los que se incluyó semilla de algodón en dietas TMR (Muñoz *et al.*, 2017) y en dietas de forrajes conservados (ensilajes) y concentrados (Grainger *et al.*, 2010). No obstante, en verano esta tendencia no está presente. Esto podría ser debido a un efecto de adaptación de la flora ruminal al aceite contenido en la semilla (Grainger *et al.*, 2010). Una de las ventajas del presente ensayo respecto a otros experimentos, es la evaluación de la suplementación con semillas oleaginosas durante un periodo extendido de tiempo (5 meses). Estos resultados coinciden con otros experimentos de otros autores que han medido el efecto de la suplementación con aceites sobre la producción de CH₄ ruminal a largo plazo. Por ejemplo, Johnson *et al.* (2002) midieron el efecto de suplementar con una mezcla de semillas de algodón y canola durante 3 meses y no reportaron diferencias significativas en emisiones de CH₄ con el grupo control. De igual modo, Woodward *et al.* (2006) reportaron que no había diferencias entre tratamientos al suplementar con aceite de pescado y aceite de linaza a vacas en pastoreo vs. el grupo control en un estudio de 12 semanas de duración. En contraste, Grainger *et al.* (2010) reportaron menores niveles de emisión de CH₄ al suplementar durante 12 semanas con semillas de algodón. Esto sugeriría que la reducción de CH₄ mediante adición de aceites en la dieta varía en función de la fuente de aceite utilizada y su

estrategia de uso, los que pueden afectar por ejemplo la adaptabilidad de la flora ruminal en el tiempo.

En el presente estudio, la adición de semillas sin procesar de RAP y LIN no tuvo efectos sobre las emisiones de CH₄ en primavera. Estos resultados se contraponen a los de Brask *et al.*, (2013), quienes reportaron un 6,7% disminución en la producción de CH₄ respecto al grupo control al suplementar con semilla de raps. Un estudio de Martin *et al.* (2015) reportaron una disminución de 11,6% de CH₄ diario al dar semillas de linaza respecto a una dieta control. Esta diferencia en resultados podría ser explicada porque los autores mencionados utilizaron semillas partidas que aumentan la disponibilidad del aceite en el rumen, a diferencia del presente estudio donde se utilizó la semilla entera. Si bien existen antecedentes en la literatura de que la forma de presentación del aceite afecta la magnitud del efecto sobre las emisiones de CH₄ (Martin *et al.*, 2009, Brask *et al.*, 2013), en este estudio se eligió trabajar con semillas enteras para proteger al rumen de los efectos deletéreos de los aceites y también por un aspecto práctico, ya que los agricultores donde estos resultados pueden ser aplicados, no tienen el equipamiento para procesar las semillas y prefieren evitar las dificultades de manejo de los aceites en las dietas.

En el periodo de verano, el CH₄ producido por unidad de consumo varió entre grupos. Dicho aumento del grupo LIN es consecuencia de una disminución aparente del consumo de forraje. De ser este el caso la producción láctea se debería haber visto afectada, escenario que no sucedió. Para mantener la producción láctea al disminuir el consumo sin modificar la dieta la eficiencia de conversión de alimento debe aumentar, eso se debería reflejar en disminución de la producción de CH₄, que tampoco sucedió en nuestro estudio. A raíz de estos resultados, la explicación que se alinea con lo observado es un error al estimar la oferta de la pradera mediante el plato. Es imprescindible contar con datos individuales de consumo para poder eliminar variables técnicas de la medición grupal que podrían haber afectado los datos obtenidos.

Producción y composición láctea

En el periodo primavera, no hubo diferencias significativas en producción láctea (kg/d) entre los tratamientos. Este resultado se alinea con otros experimentos en los cuales no se vieron diferencias en la producción láctea al suplementar con linaza un grupo de vacas alimentadas a base de heno y ensilaje de maíz durante 4 semanas (Martin *et al.*, 2015) o raps en vacas alimentadas en base a pastoreo y ensilaje de maíz y forraje durante 4

semanas (Brask *et al.*, 2013). En un experimento de 12 semanas de duración, Grainger *et al.* (2010) observaron una disminución de la producción láctea en el grupo de vacas alimentadas con algodón, atribuible al menor consumo de MS por dicho grupo.

No obstante, la suplementación con LIN disminuyó el contenido de grasa láctea en primavera. Existen antecedentes que un incremento en el consumo de ácidos grasos insaturados en la dieta de vacas lecheras puede reducir el contenido de grasa láctea (Jenkins y Harvatine, 2014). Según los mismos autores, otros factores nutricionales de riesgo son el consumo de carbohidratos de rápida fermentación y el bajo contenido de fibra de las praderas. Otros estudios han reportado menor contenido de grasa láctea al incluir semillas oleaginosas en las dietas de vacas lechera (Grainger *et al.*, 2010; Martin *et al.*, 2015). Las diferencias en sólidos totales para este periodo son consecuencia de la disminución de la grasa láctea en el tratamiento LIN.

Dado que la lactosa es el principal agente osmolar de la leche, su concentración es estable no variando mucho en función de la dieta (Manterola, 2011), explicando la similitud de lactosa láctea entre grupos en ambos periodos.

En verano, la producción láctea fue menor para el grupo RAP que el grupo CON, si bien el grupo CON tuvo un consumo numéricamente mayor de MS, este no es suficiente como para justificar dicha diferencia. Esta incongruencia podría ser por una menor digestibilidad de la semilla sin procesar al estar protegida por su epidermis o atribuible a un error alfa.

La cantidad de energía y proteína de la dieta afectan fuertemente el porcentaje de proteína láctea (Linn, 1988). Para el periodo verano, el grupo ALG tuvo mayor contenido de proteína láctea que el grupo CON, lo que se contrapone con la menor cantidad de EM pero la misma cantidad de PC respecto a CON (Tablas 2 y 3). En un estudio por Muñoz *et al.* (2017) se comparó el efecto de distintas semillas en vacas lecheras alimentadas a base de ensilaje y encontraron una tendencia ($P = 0,07$) del grupo alimentado con algodón de aumentar la proteína láctea respecto al grupo control. Esto puede estar afectado por el tipo de proteína dietaria, su disponibilidad, digestibilidad e interacciones con los niveles de energía de la dieta (Linn, 1988).

CONCLUSION

El uso de semillas enteras de linaza, algodón o raps como suplemento de vacas lecheras a pastoreo por un periodo de 19 semanas, no disminuyó la producción de CH₄ de forma absoluta, por unidad consumida o por unidad de leche producida. Por tanto, el uso de estas semillas, bajo las condiciones estudiadas, no sería una estrategia efectiva para la reducción de la emisión de CH₄ entérico de vacas en pastoreo. La semilla de algodón aumentó el porcentaje de proteína láctea en verano, por lo que podría ser un insumo dietario de interés en sistemas lecheros del sur de Chile. A raíz de estos resultados surgen otras preguntas a investigar, como el efecto de las semillas estudiadas sobre las emisiones de CH₄ luego de ser tratadas (partidas, por ejemplo) bajo las condiciones de pastoreo estudiadas acá o el efecto de las semillas estudiadas en función a las posibles variaciones de CH₄ dentro del mismo periodo.

BIBLIOGRAFÍA

AGROSUR GESTA. 2012. Informe Estudio Caracterización de los Productores Lecheros, usando Bases de Datos Disponibles. [en línea]. < <http://www.consorcirolechero.cl/chile/pags/informes-finales.php>> [consulta: 14-01-2017]

AOAC INTERNATIONAL. 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed. AOAC International. Arlington, Estados Unidos.

BENCHAAR, C.; GREATHEAD, H. 2011. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166: 338-355.

BERNDT, A.; BOLAND, T.M.; DEIGHTON, M.H.; GERE, J.I.; GRAINGER, C.; HEGARTY, R.S.; IWAASA, A.D.; KOOLAARD, J.P.; LASSEY, K.R.; LUO, D.; MARTIN, R.J.; MARTIN, C.; MOATE, P.J.; MOLANO, G.; PINARES-PATIÑO, C.; RIBAUX, B.E.; SWAINSON, N.M.; WAGHORN, G.C.; WILLIAMS, S.R.O. 2014. Guidelines for use of sulphur hexafluoride (SF₆) tracer technique to measure enteric methane emissions from ruminants. MG Lambert. Wellington, Nueva Zelanda. 166 p.

BRASK, M.; LUND, P.; WEISBJERG, M.R.; HELLWING A.L.F.; POULSEN, M.; LARSEN, M.K.; HVELPLUND, T. 2013. Methane production and digestion of different physical forms of rapeseed as fat supplements in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96: 2356–2365.

CARMONA, J.; BOLIVAR, D.; GIRALDO, L. 2005. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 18: 49-63.

CONSORCIO LECHERO. 2015. Indicadores del Sector Lechero de Chile. Imprenta América. Osorno, Chile. pp. 12-16.

DOWD, M.K.; BOYKIN, D.L.; MEREDITH, W.R.; CAMPBELL, B.T.; BOURLAND, F.M.; GANNAWAY, J.R.; GLASS, K.M.; ZHANG, J. 2010. Fatty acid profiles of cottonseed genotypes from the National Cotton Variety trials. *J. Cotton Sci.* 14:64–73.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). S.f. Livestock & Climate Change. [en línea] < <http://www.fao.org/gleam/> > [consulta: 03-01-2018]

GRAINGER, C.; WILLIAMS, R.; CLARKE, T.; WRIGHT, A.D.G.; ECKARD, R.J. 2010. Supplementation with whole cottonseed causes long-term reduction of methane emissions from lactating dairy cows offered a forage and cereal grain diet. *J. Dairy Sci.* 93: 2612–2619.

GRUDSKY, R.; ARIAS, J.L. 1983. Aspectos generales de la microbiología del rumen. [en línea] <https://web.uchile.cl/vignette/monografiasveterinaria/monografiasveterinaria.uchile.cl/CD_A/mon_vet_completa/0,1421,SCID%253D7627%2526ISID%253D410,00.html> [consulta: 22-02-2017]

HEUZÉ, V.; TRAN, G.; HASSOUN, P.; RENAUDEAU, D.; LESSIRE, M.; LEBAS, F. 2015. Linseeds. [en línea]. <<http://www.feedipedia.org/node/36>> [consulta: 28-02-2017]

HEUZÉ, V.; TRAN, G.; SAUVANT, D.; LESSIRE, M. 2016. Rapeseeds. [en línea]. <<http://www.feedipedia.org/node/15617>> [consulta: 30-03-2017]

HRISTOV, A.N.; LEE, C.; CASSIDY, T.; LONG, M.; HEYLER, K.; CORL, B.; FORSTER, R. 2011. Effects of lauric and myristic acids on ruminal fermentation, production, and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94:382–395.

HRISTOV, A.N.; OH, J.; FIRKINS, J.L.; DIJKSTRA, J.; KEBREAB, E.; WAGHORN, G.; MAKKAR, H.P.S.; ADESOGAN, A.T.; YANG, W.; LEE, C.; GERBER, P.J.; HENDERSON B.; TRICARICO, J.M. 2013. SPECIAL TOPICS — Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. *J. Anim. Sci.* 91:5045-5069.

IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2007. Climate Change 2007: Synthesis Report [en línea] s.l. <https://www.ipcc.ch/publications_and_data/publications_ipcc_fourth_assessment_report_synthesis_report.htm> [consulta: 15-02-2017]

IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2014. Climate Change 2014: Synthesis Report [en línea] s.l. <<https://www.ipcc.ch/report/ar5/syr/>> [consulta: 19-02-2017]

JENKINS, T.C.; HARVATINE, K.J. 2014. Lipid feeding and milk fat depression. *The Veterinary clinics of North America: Food Animal Practice* 30: 623-642.

JOHNSON, D.E.; HILL, T.M.; WARD, G.M.; JOHNSON, K.A.; BRANIN, M.E.; CARMEAN, B.R.; LODMAN, D.W. 1993. Principle factors varying methane emissions from ruminants and other animals. **In:** Khalil, M.A.K. *Atmospheric Methane: Sources, Sinks, and Role in Global Change*. Springer-Verlag. Berlin, Alemania. pp. 199-229.

JOHNSON, K.A.; KINCAID, R.L.; WESTBERG, H.H.; GASKINS, C.T.; LAMB, B.K.; CRONRATH, J.D. 2002. The Effect of Oilseeds in Diets of Lactating Cows on Milk Production and Methane Emissions. *J. Dairy Sci.* 85:1509–1515.

JOHNSON, K.A.; WESTBERG, H.H.; MICHAL, J.J.; COSSALMAN, M.W. 2007. The SF6 Tracer Technique: Methane Measurement From Ruminants. **In:** Makkar, H.P.S.; Vercoe, P.E. *Measuring Methane Production from Ruminants*. Springer. Dordrecht, Holanda. pp. 33-67.

KNAPP, J.R.; LAUR, G.L.; VADAS, P.A.; WEISS, W.O.; TRICARICO, J.M. 2014. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *J. Dairy Sci.* 97:3231–3261.

LINN, J.G. 1988. Factors Affecting the Composition of Milk from Dairy Cows. **In:** Committee on Technological Options to Improve the Nutritional Attributes of Animal Products, National Research Council. *Designing Foods: Animal Product Options in the Marketplace*. National Academy of Sciences. Washington, EEUU. pp. 224-242.

MANTEROLA, H. 2011. Estrategias nutricionales y alimenticias para modificar los sólidos totales de la leche. [en línea]. Circular de extensión. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile N°36. <
<http://www.agronomia.uchile.cl/u/download.jsp?document=58311&property=attachment&index=22&content=application/pdf>> [consulta: 13-02-2018]

MARTIN, C.; MORGAVI, D.P.; DOREAU, M. 2009. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal.* 351-365.

- MARTIN, C.; ROUEL, J.; JOUANY J.P.; DOREAU, M.; CHILLIARD, Y.** 2015. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. *J. Anim. Sci.* 86:2642-2650.
- MCCAUGHEY, W.; WITTENBERG, K.; CORRIGAN, D.** 1999. Impact of pasture type on methane production by lactating beef cows. *Can. J. Anim. Sci.* 79: 221-226.
- MORGAVI, D.P.; FORANO, E.; MARTIN, C.; NEWBOLD, C.J.** 2010. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal.* 1024–1036.
- MOSS, A.R.; JOUANY, J.P.; NEWBOLD, J.** 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Ann. Zootech.* 49: 231-253.
- MUÑOZ, C.; YAN, T.; WILLS, D.A.; MURRAY, S.; GORDON, A.W.** 2012. Comparison of the sulfur hexafluoride tracer and respiration chamber techniques for estimating methane emissions and correction for rectum methane output from dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:3139-3148.
- MUÑOZ, C.; HUBE, S.; MORALES, J.M.; YAN, T.; UNGERFELD, E.M.** 2015. Effects of concentrate supplementation on enteric methane emissions and milk production of grazing dairy cows. *Livest. Sci.:* 37-46.
- MUÑOZ, C.; SÁNCHEZ, R.C.; PERALTA, A.M.T.; ESPÍNDOLA, S.; YAN, T.; MORALES, R.; UNGERFELD, E.M.** 2017. Effects of oilseed supplementation on performance, methane emission and nitrogen utilization efficiency of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100:103.
- NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION.** s.f. Sulfur Hexafluoride. [en línea]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/sulfur_hexafluoride> [consulta 20-02-2017]
- NEWBOLD, C.J.; DE LA FUENTE, G.; BELANCHE, A.; RAMOS-MORALES, E.; MCEWAN, N.R.** 2015. The Role of ciliate protozoa in the rumen. *Front. Microbiol.* 6: 1-14.
- OFICINA DE ESTUDIOS Y POLÍTICAS AGRARIAS (ODEPA).** s.f. Recepción y elaboración de la industria láctea. [en línea]. <<http://www.odepa.gob.cl/recepcion-y-elaboracion-de-la-industria-lactea>> [consulta 10-04-2018]

PALMQUIST, D.L.; JENKINS, T.C. 2017. A 100-Year Review: Fat feeding of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100:10061–10077.

POPOVA, M.; MARTIN, C.; EUGÈNE, M.; MIALON, M.M.; DOREAU, M.; MORGAVI, D.P. 2011. Effect of fibre- and starch-rich finishing diets on methanogenic Archaea diversity and activity in the rumen of feedlot bulls. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166:113–121.

ROBERTSON, L.J.; WAGHORN, G.C. 2002. Dairy industry perspectives on methane emissions and production from cattle fed pasture or total mixed rations in New Zealand. *Proc. of the N. Z. Soc. Anim. Prod.* 62: 213–218.

SAUVANT, D.; GIGER-REVERDIN, S. 2007. Empirical modelling by meta-analysis of digestive interactions and CH₄ production in ruminants. **In:** International Symposium on Energy and Protein. Parma, Italia. 6-10 septiembre 2010. European Federation of Animal Science. pp. 561-562.

SALADO, E.; BRETSCHNEIDER, G.; ARIAS, D. 2015. Síndrome del bajo tenor de grasa en leche. [en línea] <https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_sindrome_del_bajo_tenor_de_grasa_en_leche_marzo2.pdf> [Consulta: 13-02-18]

ULYATT, M.J.; LASSEY, K.R.; SHELTON, I.D.; WALKER, C.F. 2002. Seasonal variation in methane emission from dairy cows and breeding ewes grazing ryegrass/white clover pasture in New Zealand. *N. Z. J. of Agric. Res.* 45: 217-226.

UNGERFELD, E. M. 2013. A theoretical comparison between two ruminal electron sinks. *Front. Microbiol.* 4: 1-15.

WOODWARD, S.L.; WAGHORN, G.C.; THOMSON, N.A. 2006. Supplementing dairy cows with oils to improve performance and reduce methane—Does it work? *Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.* 66:176–181.