

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL
CUSCO**

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE ZOOTECNIA



**“EVALUACION DE LA CANTIDAD DE METANO PRODUCIDO
EN VACUNOS BAJO CONDICIONES DE PASTOREO Y
SUPLEMENTACIÓN EN EPOCA DE SECAS EN EL CENTRO
EXPERIMENTAL LA RAYA”**

**Tesis presentada por la Bachiller en Ciencias Agrarias:
VIANCA LIPA ANCCO, para optar al título
profesional de INGENIERO ZOOTECNISTA.**

ASESOR:

Ing. M.Sc. JUAN E. MOSCOSO MUÑOZ.

FINANCIAMIENTO: VICERRECTORADO DE INVESTIGACION – UNSAAC.

K'AYRA – CUSCO – PERÚ

2017

DEDICATORIA

A MI MADRE GRACIELA

Por su invaluable apoyo,
ternura y cariño que siempre
me ha ofrecido.

A MI PADRE FRANCISCO

Por su motivación y sus
consejos para que salga
adelante

A MI TIO SIMON

Que fue un segundo padre
apoyándome siempre en
todo.

A TI (E)

Por estar a mi lado en todo
momento, por tu amor
incondicional.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor **M.Sc. Juan Moscoso Muñoz**, por su valiosa ayuda para la elaboración de este trabajo.

A mis dictaminantes, **Mgt. Angel Altamirano y Dr. Andres Estrada**, por su orientación y consejos en la mejora del presente trabajo.

A todos los docentes de la **Escuela Profesional de Zootecnia**, que me dieron los conocimientos y enseñanzas durante mi formación profesional y personal.

A toda mi **familia** por su apoyo constante, confianza y sobre todo por el cariño que día a día me dan.

A todos mis amigos y compañeros de la Universidad en especial a **Liz, Maday y Deysi** por su amistad y apoyo en todo momento.

CONTENIDO DE INDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
CONTENIDO DE INDICE	iii
INDICE DE CUADROS	v
INDICE DE FIGURAS	vi
INDICE DE FOTOGRAFÍAS	vi
INDICE DE ANEXOS	vii
GLOSARIO.....	viii
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
1. CAPITULO I.....	4
PROBLEMA OBJETO DE ESTUDIO	4
1.1. OBJETIVO Y JUSTIFICACIÓN	6
1.2. HIPÓTESIS	6
1.3. JUSTIFICACIÓN.....	7
2. CAPITULO II.....	9
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	9
2.1. GASES DE EFECTO INVERNADERO PROVENIENTES DE LA GANADERIA Y SU EFECTO SOBRE EL CAMBIO CLIMATICO	9
2.2. METANO	10
2.3. ESTRATEGIAS DE MITIGACIÓN DE LAS EMISIONES DE METANO	25
2.4. METODO DE MEDICION DE METANO MEDIANTE LA TECNICA DE TRAZADOR DE HEXAFLORURO DE AZUFRE SF ₆	32
3. CAPITULO III.....	44
MATERIALES Y MÉTODOS.....	44
3.1. ÁREA DE ESTUDIO	44
3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO	45
3.3. MATERIALES Y EQUIPOS.....	45
3.4. METODOLOGÍA.....	48

3.5. DISEÑO ESTADÍSTICO PARA EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS	64
4. CAPÍTULO IV	65
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	65
4.1. CANTIDAD DE METANO PRODUCIDO (CH ₄ , g/día)	65
4.2. CANTIDAD DE METANO PRODUCIDO (CH ₄ , l/día)	67
4.3. CANTIDAD DE METANO PRODUCIDO (CH ₄ , g/kg PV/día)	68
4.4. CANTIDAD DE METANO PRODUCIDO (CH ₄ , g/kg MS)	69
5. CAPÍTULO VI	70
CONCLUSIONES	70
RECOMENDACIONES	71
6. CAPITULO VI	72
BIBLIOGRAFÍA.....	72

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Estimaciones de las principales fuentes naturales y antropogénicas de metano a nivel global (millones de Ton. /año).....	11
Cuadro 2. Estimación de la emisión de metano proveniente de fermentación entérica y manejo de estiércol.	13
Cuadro 3. Características de las vacas utilizadas	45
Cuadro 4. Características de los tubos de permeación seleccionados	49
Cuadro 5. Registro de aplicación de tubos a las vacas	56
Cuadro 6. Disponibilidad forrajera sector Huaracani	59
Cuadro 7. Ingredientes e información nutrición del concentrado.....	60
Cuadro 8. Metano producido por tratamiento (CH ₄ , g/día)	65
Cuadro 9. Metano producido por tratamiento (CH ₄ , l/día).....	67
Cuadro 10. Metano producido por tratamiento (CH ₄ , g/kg PV/día).....	68
Cuadro 11. Metano producido por tratamiento (CH ₄ , g/kg MS)	69

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fermentación ruminal para la formación de metano	21
Figura 2. Metabolismo de los carbohidratos en el rumen	24
Figura 3. Estructura del tubo de permeacion.....	35
Figura 4. Formas de los recipientes de colección (tanques)	37
Figura 5. Posicionamiento de los recipientes de colección	38
Figura 7. Vías de entrada para la recolección de muestras de aire.....	40
Figura 8. Formas de capilares usados para la restricción de flujo	41

INDICE DE FOTOGRAFIAS

Foto 1. Estructura de la línea capilar	39
Foto 2. Tanque en forma de “V” de PVC	50
Foto 3. Tanques en forma de cilindro	51
Foto 4. Evaluación de líneas capilares	53
Foto 5. Colocación de la línea capilar en la Jáquima.....	54
Foto 6. Animal con el aparato de muestreo	56

INDICE DE ANEXOS

Anexo I. Calibración de tubos de permeación en gramos (g)	85
Anexo II. Evaluación de tanques	86
Anexo III. Evaluación de capilares.....	86
Anexo IV. Registro de vacas en adiestramiento	87
Anexo V. Modelo de cálculo de metano	88
Anexo VI. Análisis de varianza y prueba de Duncan de la producción de metano en gramos por día (CH ₄ , g/día)	89
Anexo VII. Análisis de varianza y prueba de Duncan de la producción de metano en gramos por día (CH ₄ , g/día) con datos transformados	89
Anexo VIII. Análisis de varianza y prueba de Duncan de la producción de metano en litros por día (CH ₄ , l/día)	90
Anexo IX. Análisis de varianza y prueba de Duncan de la producción de metano en litros por día (CH ₄ , l/día) con datos transformados.....	90
Anexo X. Análisis de varianza y prueba de Duncan de la producción de metano en gramos por kilogramo de peso vivo (CH ₄ , g/kg PV/día)	91
Anexo XI. Análisis de varianza y prueba de Duncan de la producción de metano en gramos por kilogramo de peso vivo (CH ₄ , g/kg PV/día) con datos transformados	91
Anexo XII. Análisis de varianza y prueba de Duncan de la producción de metano producido en gramos por kilogramo de materia seca consumida (CH ₄ , g/kg MS)	92
Anexo XIII. Análisis de varianza y prueba de Duncan de la producción de metano producido en gramos por kilogramo de materia seca consumida (CH ₄ , g/kg MS) con datos transformados.....	92
Anexo XIV. Análisis nutricional de los alimentos consumido por las vacas.....	93

GLOSARIO

SF₆	Hexafloruro de azufre
CH₄	Metano
CO₂	Dioxido de carbono
IPCC	Panel Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático
GEI	Gases de efecto invernadero
MS	Materia seca
FDN	Fibra Detergente Neutro
FDA	Fibra Detergente Ácido
EN	Energía Neta
EM	Energía Metabolizable
EB	Energía Bruta
AGV	Ácidos Grasos Volátiles
PC	Proteína Cruda
MO	Materia Orgánica
CV	Coeficiente de variabilidad

RESUMEN

Se realizó el estudio “Evaluar la cantidad de metano producido en vacunos bajo condiciones de pastoreo y suplementación nutricional a 4300 m.s.n.m. en época de secas”; en el Centro Experimental “La Raya”, ubicada en el distrito de Marangani, provincia de Canchis y departamento de Cusco; entre diciembre del 2014 a marzo del 2016. Se utilizó 5 vacas de 8 años y medio en promedio, las vacas fueron evaluadas en dos tratamientos que correspondieron a la medición de metano de acuerdo a su dieta (pastura natural y ensilado) y a la medición de metano utilizando suplementación nutricional (concentrado), bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA). La cantidad de metano producido para el tratamiento con ensilado fue de 578,71 g/día y para el tratamiento con suplementación de concentrado fue de 407,07 g/día, sin encontrarse diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($p < 0,05$); al calcular la emisión de metano producido en l/día el tratamiento con ensilado fue de 882,54 l/día y con concentrado fue de 620,77 l/día sin encontrarse diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($p < 0,05$), según la medición de metano en este estudio se muestra una reducción del metano de aproximadamente un 30% con suplementación de concentrado a su dieta, demostrando su efecto mitigador, en cuanto a la expresión por kilogramo de peso vivo también fue influenciada con el tratamiento de concentrado, siendo este menor con 0,85 g/kg PV/día comparado al de ensilado con 1,23 g/kg PV/día, pero no se encontró diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($p < 0,05$); por último se calculó la cantidad de metano producido en gramos por cada kilogramo de materia seca consumida no encontrándose diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$) siendo la media para el tratamiento con ensilado 41,08 g/kg MS y para el tratamiento con concentrado 28,47 g/kg MS.

Palabras clave: metano, ensilado, concentrado, efecto mitigador, vacas.

INTRODUCCIÓN

El calentamiento global es uno de los principales problemas por los que atraviesa la humanidad, en su quinto informe el Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC) señala que en 2014 los científicos estaban más del 95 % seguros de que la mayor parte del calentamiento global es causada por las crecientes concentraciones de gases de efecto invernadero (GEI) y otras actividades humanas (antropogénicas) tales como las agrícolas y ganaderas que contribuyen directamente a la emisión de GEI como es el caso del metano (CH_4), el dióxido de carbono (CO_2) y el óxido nitroso (N_2O), siendo el metano la de mayor importancia constituyendo a su vez uno de los mayores problemas ya que su potencial de absorción de radiación es aproximadamente 21 a 25 veces superior al del CO_2 (Moss et al., 2000), lo que implica tener que desarrollar acciones tendientes a reducir sus efectos y que parten en primer lugar por disminuir su concentración en la atmósfera.

Diversos estudios indican que la actividad ganadera produce entre el 15 – 20% de la emisión mundial de gas de metano, debido mayoritariamente a que los rumiantes emiten metano durante la digestión del alimento en el rumen, la producción de CH_4 en el rumen es un indicador de ineficiencia energética (Moss et al, 2000 y Moss and Givens, 2002).

Actualmente, es necesario tanto reducir las emisiones de metano derivado de la actividad pecuaria, como identificar maneras de aumentar la productividad ganadera, mejorando la nutrición de los animales a través de estrategias sustentables de pastoreo. Existen variadas estrategias nutricionales y de manejo capaces de reducir las

emisiones del metano entérico en los rumiantes, pero con limitadas opciones de aplicación práctica en los sistemas de crianza alto andino. La mejora de la dieta del ganado podría ser una opción posible para disminuir las emisiones de CH₄ (Hristov et al., 2013). La utilización de concentrados a base de granos o subproductos de procesamiento de forrajes en la alimentación disminuyen la intensidad de las emisiones de CH₄ entérico debido a una concentración más alta de energía digestible que la de los forrajes suelen tener un efecto positivo en la productividad de los rumiantes (Doreau et al., 2011). Por lo tanto, la adición de concentrados en la dieta debe aumentar la producción animal y reducir la intensidad de emisión del CH₄ entérico.

En el Perú, las emisiones de CH₄ no han sido estudiadas en los diferentes sistemas de producción (sistemas al pastoreo) y debido a las características propias de la crianza animal, estas emisiones serían más altas que bajo otras condiciones, la alimentación tradicional del ganado vacuno en altura (pasturas nativas alto andinas) está conformada por pastos y forrajes maduros de alto contenido en fibra, altamente metanogénica, con impacto negativo sobre la productividad animal y la salud ambiental que en muchos casos limita los sistemas de producción debido a las condiciones medioambientales desfavorables, pobre manejo, bajos consumos y así como por la baja eficiencia de utilización de nutrientes para producir carne o leche. En ese sentido estos factores deben ser estudiados para poder diseñar estrategias que ayuden a la mejor utilización de los alimentos por lo tanto a la reducción de la emisión de CH₄ y así reducir sus efectos ambientales especialmente bajo condiciones de pastoreo en zona de altura (4300 m.s.n.m).

CAPITULO I

PROBLEMA OBJETO DE ESTUDIO

El Perú por sus características climáticas y geográficas de ubicación está considerado como un país de alto riesgo en relación a las consecuencias desfavorables del cambio climático, en este contexto las poblaciones ubicadas en la zona sur del país, principalmente de las zonas altas, se encuentran más expuestas a sus efectos. Las estimaciones realizadas consideran que por efecto del cambio climático se reducirá la producción ganadera entre 3 a 6% dependiendo del tipo de sistema productivo siendo mayor en sistemas pastoriles lo que puede afectar su viabilidad y sostenibilidad (Gomez, 2009).

La fermentación entérica del ganado vacuno representa una importante fuente de metano (CH_4), gas que eliminan normalmente los animales rumiantes como producto de su proceso digestivo, constituyendo pérdida de energía que afecta la productividad animal y contaminación que afecta la salud ambiental (Pinares et al., 2009; Jiao et al., 2013), la producción de metano depende de la calidad de la dieta que en el caso de la sierra del Perú depende de las especies forrajeras nativas ya que son la base de la alimentación del ganado vacuno bajo condiciones de pastoreo, las mismas que presentan limitaciones desde el punto de vista nutricional y productivo (condicionadas por factores de orden climático).

Hoy en día no se cuenta con información real de los niveles de emisión de metano (línea base), de hasta qué medida la suplementación ayude a mitigar estas emisiones y de cómo estas se ven influenciada por los sistemas de crianza altoandinas actuales en las condiciones de altura (4300 m.s.n.m.), en época de secas, limitando la

sistematización de información necesaria para poder establecer medidas de mitigación en el presente y futuro.

Es en base a ello que se plantea las siguientes interrogantes:

- ¿Cuál es el nivel de emisión de CH₄ en condiciones de pastoreo en época de secas (pastura natural con ensilado)?
- ¿De qué manera el uso de suplementación con concentrado a la dieta base (pastura natural con ensilado) influye sobre la producción de gases de efecto invernadero por los animales?

1.1. OBJETIVO Y JUSTIFICACIÓN

1.1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la emisión de metano producido por vacunos bajo condiciones de pastoreo (pastura natural con ensilado) y con suplementación de concentrado en el Centro Experimental “La Raya” a 4 300 m.s.n.m. durante la época de secas.

1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Determinar la cantidad de metano producido por vacunos alimentados con dieta de pastura natural y ensilado bajo la técnica del trazado por SF₆ a nivel TIER 3.
- 2) Determinar la cantidad de metano producido por vacunos con dieta base (pastura natural con ensilado) y suplementación con concentrado bajo la técnica del trazado por SF₆ a nivel TIER 3.

1.2. HIPÓTESIS

Ha: Las emisiones de metano se ven influenciadas por el tipo de alimento que consumen las vacas.

Ho: Las emisiones de metano no se ven influenciadas por el tipo de alimento que consumen las vacas.

1.3. JUSTIFICACIÓN

La mayor parte de los sistemas de crianza en las zonas alto andinas del Perú son bajo condiciones de pastoreo con pastura nativa por tanto es importante conocer la real dimensión de la utilización y aprovechamiento de estos nutrientes en el animal teniendo en cuenta el efecto negativo que puede generar estos pastizales en la producción de metano (CH_4) por las mayores ineficiencias digestivas y pérdidas energéticas en el proceso de fermentación ruminal.

Para desarrollar estrategias que mitiguen las emisiones de metano en la ganadería, debe ser posible cuantificar estas emisiones bajo un amplio rango de circunstancias. Existen diversas metodologías para la estimación de la emisión de metano, en el Perú la metodología usada para el año 1994 y 2006 fue la del Nivel TIER-1 del Panel Internacional sobre Cambio Climático (IPCC) la cual es limitada debido a que no considera factores como peso, edad, género y régimen de alimentación.

Los valores reportados en la literatura del país son limitados y, han sido efectuados en base a estimaciones tomando en consideración parámetros zootécnicos y modelos matemáticos que no se ajustarían a las condiciones productivas del país, y que limitan su utilización en el diseño de planes y programas de manejo ambiental.

Los estudios han mostrado una diversidad de estrategias para disminuir las emisiones de CH_4 entérico, pero con limitadas opciones de aplicación práctica en los sistemas agropecuarios andinos.

Es por ello que se plantea el presente proyecto de investigación que tiene la finalidad de estudiar los niveles de emisión de metano por efecto de la actividad pecuaria en la zona alto andina del Cusco que permitan en el futuro tener un inventario adecuado por zonas para realizar acciones de mitigación tendientes a reducir estas emisiones y hacer más eficientes a los animales en el uso de los recursos forrajeros bajo condiciones ambientales del país en zonas altas (>3900 m.s.n.m.)

CAPITULO II

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. GASES DE EFECTO INVERNADERO PROVENIENTES DE LA GANADERIA Y SU EFECTO SOBRE EL CAMBIO CLIMATICO

El sector pecuario representa una fuente significativa de emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) en todo el mundo, al generar dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4) y óxido nitroso (N_2O) a lo largo del proceso productivo. El ganado contribuye con el cambio climático al emitir GEI, bien sea directamente (a través de la fermentación entérica o el estiércol) o indirectamente (por las actividades desarrolladas durante la producción de piensos y la conversión de bosques en pastizales) (FAO 2013). Se ha calculado, con base en el análisis del ciclo de vida (ACV), que el sector emite aproximadamente 7,1 Gt de $\text{CO}_2\text{-eq/año}$, o cerca del 18 por ciento del total de las emisiones de los GEI antropogénicas (Steinfeld et al., 2009).

El aumento de las concentraciones de estos gases provoca un calentamiento de la superficie terrestre y la destrucción de la capa de ozono en la estratosfera (Primavesi et al., 2004), las concentraciones atmosféricas de estos gases han aumentado desde 1750 debido a la actividad humana. En 2011, las concentraciones de estos gases de efecto invernadero eran de 391 ppm, 111 803 ppmm y 324 ppmm, respectivamente, valores que excedían los niveles preindustriales en aproximadamente el 40%, el 150% y el 20%, respectivamente (IPCC, 2013 Y 2014), las tasas de acumulación de metano y dióxido de carbono en la atmósfera han cambiado drásticamente en los últimos años presentándose un incremento de forma exponencial. Estimaciones realizadas a través

de modelos indican, para algunos escenarios de emisiones futuras, que antes de fin de siglo el aumento será del orden de 2 a 6 °C (IPCC 2007). Las observaciones directas de cambio recientes, a escala global y regional son el aumento de las temperaturas medias en el aire y en los océanos, el derretimiento de nieve y hielos, y el aumento del nivel medio del mar.

Aunque el CO₂ es uno de los GEI más abundante y con mayor aporte al incremento del calentamiento global, las emisiones de metano, gas que posee un potencial de calentamiento de 21 a 30 veces mayor que el CO₂, se han venido incrementando aceleradamente en las últimas décadas (Carmona et al., 2005). Otros autores reportan que el metano (CH₄) tiene un potencial de efecto invernadero 25 veces mayor que el CO₂ (IPCC, 2007).

2.2. METANO

El metano es el segundo gas más importante de efecto invernadero previéndose que en el futuro pueda ser el principal (McCaughey et al., 1999). Es el resultado de la fermentación de la materia orgánica vegetal y animal mediante arqueobacterias metanogénicas en ambientes anaeróbicos.

El metano es un gas incoloro e inodoro producido en el rumen de las vacas (87%) y en menor grado en el intestino grueso (17%); y este representa el 52% del total de gases de efecto invernadero producidos durante la producción y procesamiento de leche, FAO (2010).

Cerca de 500 millones de toneladas métricas/año de metano ingresan a la atmósfera debido a actividades antropogénicas y fenómenos naturales. A esta tasa se espera que el metano cause cerca del 15-17% del calentamiento global. Actualmente se tienen definidas las fuentes de metano causantes de este efecto (véase Tabla 1), pero el grado de incidencia y la proporción exacta de muchas de estas fuentes no son claras (Johnson y Johnson 1995).

Cuadro 1: Estimaciones de las principales fuentes naturales y antropogénicas de metano a nivel global (millones de Ton. /año).

NATURAL		ENERGIA/ DESECHOS		AGRICULTURA	
Pantanos	115	Gas y petróleo	50	Cultivos de arroz	60
Océanos	15	Carbón mineral	40	Animales domésticos	80
Termitas	20	Carbón vegetal	10	Abonos orgánicos	10
Combustión	10	Rellenos sanitarios	30	Combustión	5
		Aguas residuales	25		
Total	160		155		155

Fuente: Johnson y Johnson 1995

Kurihara et al (1999) y Johnson y Johnson (1995), señalan que las emisiones de gas metano por el ganado bovino, están estimadas en 58 millones de toneladas/ año, lo que representa el 73% del total de emisiones (80 millones) de todas la especies domésticas. McCaughey et al (1997) y Moss et al (2000) indican que los animales domésticos, principalmente el ganado bovino son responsables de aproximadamente el15% de la producción de metano global. Otros contribuyentes significativos son los pantanos naturales (21%), los cultivos de arroz (20%), pérdidas por combustión de

hidrocarburos (14%), combustión de biomasa (10%) y rellenos sanitarios (7%)(McCaughey et al 1997.)

2.2.1. Emisiones de Metano en el Perú:

En el Perú, de acuerdo a la Primera Comunicación Nacional a la Convención de Naciones Unidas sobre cambio Climático realizada en 1994, se reportó como mayor fuente de emisión la deforestación (41%) seguido de generación de energía y transporte (23%) y agricultura (22.4%).

Utilizando la metodología Nivel-1 del IPCC, la emisión de CH₄ proveniente de los diferentes sistemas de producción animal para el año 2006 (Cuadro 2) en el Perú fue de 472 Gg (10.8 Mt de equivalentes de CO₂) lo que representa un incremento del 25% respecto al año 1994. El metano proveniente de fermentación entérica fue de 458.3 Gg mientras que la producción de estiércol para el 2006 contribuye con solo 13.7 Gg / año, representando un incremento del 22%, el metano proveniente de fermentación entérica fue el principal contribuyente (García et al., 2007). De estos resultados el ganado vacuno representa el mayor contribuyente (64%) al total de emisión de CH₄ en el país seguida por los ovinos (17%). La población animal así como su distribución geográfica fueron consideradas para este propósito usando información del Instituto Nacional de Estadísticas del Perú INEI, 2007. La emisión de CH₄ calculada fue convertida a equivalentes de CO₂ multiplicando la emisión anual por 23 (Fernandez C., et al., 2007).

Cuadro 2: Estimación de la emisión de metano proveniente de fermentación entérica y manejo de estiércol.

	Población animal	Estructura medio ambiental de la población (%).			Emisión por fermentación entérica		Emisión por manejo de estiércol		Emisión total	
		Cabezas año	Frio (-15°C)	Templado (15-25°C)	Cálido (+25°C)	Gg/año	%	Gg/año	%	Gg/año
Vacas en producción	693 651	20	70	10	54,6	11,9	0,6	4,5	55,2	11,7
Vacunos de carne y ganado lechero *	4 900 349	65	25	10	240,1	52,4	6,1	43,9	246,2	52,1
Ovinos	15 902 000	87	12	1	79,5	17,3	1,7	12,3	81,2	17,2
Caballos	1 062 154	70	25	5	19,1	4,2	1,4	9,7	20,5	4,3
Alpacas	3 517 000	95	5	-	23,8	5,2	0,5	3,5	24,3	5,2
Mulas / Asnos	1 113 576	55	35	10	11,1	2,4	0,9	6,1	12,0	2,5
Caprinos	2 092 000	39	60	1	10,5	2,3	0,3	2,2	10,8	2,3
Llama	1 254 000	98	2	-	12,5	2,7	0,3	1,8	12,7	2,7
Otros**	26 282 343	50	40	10	7,1	1,5	2,2	15,9	9,3	2,0
Total					458.3	100.0	14.0	100.0	472	100.0

*Considera parte de vacunos lecheros (vacas en secas y animales de cría).

**Considera cerdos, aves y cuyes.

Fuente: Fernandez C., M., Garcia O., M., & Gómez B., C. 2007.

Asimismo, la ganadería de Puno y Cajamarca representan el 11 y 6,8% respectivamente del total de emisión de CH₄. De acuerdo a Leng (1993) el desarrollo de un “medioambiente amigable” de los sistemas de producción requiere que el incremento de la producción debe de ser cubierto por el incremento de la eficiencia productiva y no a través del incremento del número de animales. Esto no es lo que estaría ocurriendo en el Perú ya que se ha mostrado un incremento en el número de ganado principalmente lechero (Gómez et al., 2005).

2.2.2. Producción de metano por ganado vacuno:

El metano producido por los bovinos en calidad de GEI, juega un papel cada vez más importante en relación con el calentamiento global dado que las concentraciones atmosféricas se han incrementado en aproximadamente 150% en los últimos 250 años (Marín, 2013).

La cantidad de metano producida y excretada depende fundamentalmente de dos factores: el tipo de animal, y el tipo de dieta a la que los animales están sujetos. Los rumiantes (ganado vacuno) son los que producen mayores cantidades debido a la fermentación entérica que tiene lugar en el rumen durante la digestión. Por otro lado los animales de mayor tamaño y/o mayor edad tienden a producir mayores cantidades de metano. El tipo de alimento que los animales consumen es el otro factor determinante de las cantidades de metano emitido: cuanto menos digestible es el alimento más metano se produce (Crutzen et al., 1986).

En general, los alimentos de alta digestibilidad producen menor cantidad de emisiones de metano en comparación con las dietas de mala calidad. Por lo tanto, con ganado de engorda en las dietas de alta calidad ricas en grano, alrededor del 2% de su consumo de energía se convierte en metano, mientras que hasta el 12% del consumo bruto de energía se pierde en forma de metano en ganado con dietas de baja calidad ricas en fibra. La manipulación de la dieta puede proporcionar un mecanismo para reducir las emisiones de metano del ganado doméstico. (Bakker, et al., 1997)

Las características de la dieta tienen un gran efecto en la producción de gas metano a nivel global, de ahí que países con pocas limitaciones alimentarias para sus

ganados, reportan datos de menores emisiones de gas metano y mayores eficiencias energéticas. Crutzen *et al.* (1986) menciona que en los países en vía de desarrollo, las emisiones son aproximadamente de 55 kg CH₄/año por animal, en contraste a lo reportado en países desarrollados, de 35 kg CH₄/año por animal.

En 1915 se reportaron valores de 4,8 y de 4,7 g de CH₄ producido por cada 100 g de carbohidratos digeridos ofrecidos en forma de forrajes, o una mezcla de forrajes y concentrado, respectivamente; y en 1919 se reportó una producción de CH₄ de 4,29 g por cada 100 g de carbohidratos digestibles por encima del nivel de mantenimiento. En 1945 se midió experimentalmente una tasa diaria de producción de CH₄ de 180 l/día en vacas secas con raciones de mantenimiento y de 280 l/día en vacas de lactantes con dietas de producción (Wolin, 1960)

Según Johnson y Johnson (1995), las vacas producen entre 250 y 500 litros de metano al día y Jouany (1994) indica que una vaca adulta puede producir alrededor de 300 a 600 l de CH₄/vaca/día. Otros autores reportan que el ganado bovino produce alrededor de 150 a 420 l de CH₄/animal/día (Czerkawski, 1969; Holter y Young, 1992; McAllister *et al.*, 1996).

Adicionalmente, estiman de manera general que las vacas producen aproximadamente 23 g/kg MS (Moate, 2010),

Chase (2007) reporta emisiones de CH₄ de 587 l/vaca/día obtenidos para vacas norteamericanas, mediante el sistema de valoración proteica y energética desarrollado por la Universidad de Cornell, conocido como "Cornell Net Carbohydrate and Protein

System (CNCPS)", inclusive se estima que las emisiones pueden alcanzar los 793 l/animal/día, en vacas de muy alta producción.

Los trabajos realizados en Nueva Zelanda con vacas lecheras alimentadas con pastos subtropicales, registraron emisiones de 422 g/día (Ulyatt *et al.*, 2002)

Dini (2012) en su estudio realizado en Uruguay con vacas en pastoreo comparando una pastura rica en leguminosas (60% del total de materia seca) y otra pastura rica en gramíneas (76 % del total de materia seca) indica que la emisión de CH₄ por animal fue de 368 g/d el cual coincide con los reportados por Waghorn *et al.* (2003) y Westberg *et al.* (2001), los cuales están en el rango de 345-388 g. Así mismo, la emisión de CH₄ expresada por unidad de producción de leche fue 18,9 g/kg y no difirió entre tratamientos, del mismo modo la producción de CH₄ por unidad de consumo de materia seca fue de 22,2 g/kg en promedio y como porcentaje de energía bruta ingerida 6,6 % en promedio, valor que se encuentra dentro de lo que indica Johnson y Johnson (1995) de 2 y el 12%.

Marín (2013) encontró que las emisiones de CH₄ por animal al día, producto de la fermentación *in vitro* de pastos y dietas, ascienden a los 443,59 g y 648,80 g, respectivamente, a partir de la información generada como producto de la fermentación ruminal *in vitro* de los pastos.

El análisis de varios experimentos en los que se midió la emisión de CH₄ a partir de distintos tipos de dietas (forrajes, mixtas y peletizadas), indicó que en cada tipo de dieta con un consumo a nivel de mantenimiento, la producción de CH₄ se incrementó a medida que aumentó la digestibilidad aparente de ésta; la producción media de CH₄ fue

de 8,07 Kcal por cada 100 Kcal ingeridas, con una escala de 6,2 a 10,8, correspondiendo el valor más bajo a pasto festuca peletizado y el más alto a pulpa de remolacha como alimento único (Blaxter y Clapperton, 1965).

Vacas Friesian tuvieron menor emisión de CH₄ cuando se alimentaron con base en *Lotus corniculatus* comparadas con vacas alimentadas con ensilado de ryegrass (26,9 vs 35,1 g/kg MS y 378 vs 434 g/kg de sólidos en leche (Kamra *et al.*, 2008).

A partir de ecuaciones predictivas, el IDEAM (2009) reportó que las emisiones de CH₄ producto de la fermentación entérica alcanzaron en promedio los 156,17 g/animal/día en ganado no lechero con un peso en pie promedio de 403,93 kg, razón por la cual se hizo los cálculos utilizando el “Factor de Emisión para Fermentación Entérica” recomendado por el IPCC (IPCC, 1997), que para este tipo de ganado y América Latina es de 57. Este factor de emisión está calculado para vacas con producción promedio de 800 kg/año, (2,2 l/día).

Berra *et al.*, (2007) para su investigación utilizó una vaca Holstein de 6 años con 550 kg en la unidad experimental del Instituto de Patobiología, INTA Castelar, alimentada con alfalfa y bromegrass *ad libitum*, de la cual hizo la colección de gas a partir de una fístula ruminal de 2 cm, para determinar concentraciones de metano 4 muestras fueron tomadas por encima del periodo de 24 horas; los resultados obtenidos fueron en promedio de 247 l/día indicando que esta es una técnica prometedora bajo condiciones de campo ya que están dentro de los valores reportados por Johnson y Johnson (1995).

La emisión de CH₄ también está influenciada por el rendimiento de leche y la vida útil de vacas ya que el incremento de rendimiento de leche decrece la vida útil de las vacas; el efecto dominante del alto rendimiento de leche comparado con la baja vida útil de las vacas lecheras fue encontrado por Rus *et al.*(2007) además por la energía acumulada por leche producida. Pero no se encontró efecto por el rendimiento de leche que 8,000 kg FCM/vaca/año.

Swainson *et al.*,(2008) en su estudio comparativo entre vacas, ovejas y venados utilizó jals metabólicas para medir la ingestión de materia seca individual, los animales fueron alimentados con ensilado de alfalfa y los cálculos usados para requerimientos de energía estuvieron basados en la alimentación estándar australiana para rumiantes y las mediciones de metano fueron hechas usando la técnica del SF₆, indicó que la ingesta de materia seca (MS) por kg de peso vivo fue mejor para vacunos (0,060 kg MS/kg PV^{0.75}) comparada con venados (0,046 kg MS/kg PV^{0.75}) y ovejas (0,048 kg MS/kg PV^{0.75}). La producción de metano de vacunos (140,4 gr CH₄/día) fue mejor comparada con de los venados y ovejas. El rendimiento de metano también fue diferente entre especies siendo el de mayor rendimiento los vacunos (20,6 g/kg MS).

El 35% de producción de CH₄ entérico proviene de sistemas pastoriles (Niggli *et al.*, 2009) y la literatura reporta que el consumo de materia seca es el principal factor que influye sobre la producción de CH₄ entérico (Buddle *et al.*, 2011)

Se estima que la formación de metano representa una pérdida de 7 al 10% de la ingesta de los rumiantes de la energía bruta (Moss y Givens, 1993), dependiendo del nivel de consumo de alimento, la composición de la dieta y la digestibilidad aparente de

la energía alimentaria (Soliva y Hess, 2007). Según otros autores la pérdida de energía bruta por metano puede ser del 2% en animales alimentados con dietas ricas en granos y de alrededor del 12% en animales alimentados con pasturas de baja calidad. Esa energía que se está perdiendo debería ser canalizada para mejorar la productividad de los animales y reducir las emisiones.

Muchos investigadores usando cámaras calorimétricas han mostrado que el rendimiento de CH₄ es aproximadamente 23 g CH₄/kg MS (Dijkstra *et al.*, 2011).

2.2.3. Fisiología de la producción de metano en el aparato digestivo de los

vacunos:

Los bovinos poseen un sistema digestivo que tiene la capacidad de aprovechar y convertir material fibroso con altos contenidos de carbohidratos estructurales, en alimentos de alta calidad nutritiva, la carne y la leche. Sin embargo por sus características innatas, este mismo sistema digestivo también produce metano.

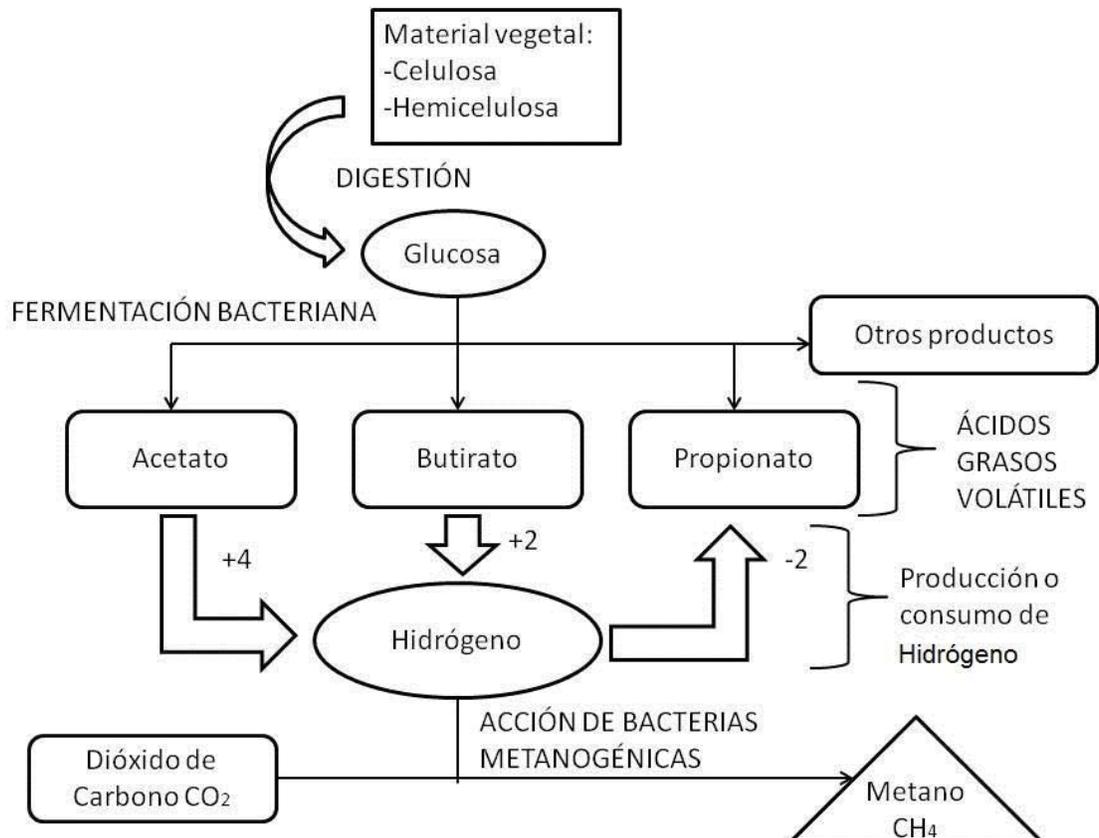
La eliminación de metano vía eructo en el ganado inicia aproximadamente las 4 semanas de vida, cuando los alimentos sólidos empiezan a ser retenidos en el retículo-rumen, aumentándose la fermentación y la producción de gases a medida que el retículo-rumen se va desarrollando (McCaughey *et al.*, 1999).

McCaughey *et al.*, (1999) reportan que 87% de la producción de metano se da en el rumen, y el 13% en el tracto digestivo posterior. De este último, aproximadamente el 89% es absorbido hacia la sangre y expirado a través de los pulmones. Esto indica

que cerca del 98% del total de metano producido por los rumiantes puede ser expirado a través de la boca y los orificios nasales.

El ganado bovino emite CH_4 porque en su proceso digestivo participan diferentes tipos de bacterias anaeróbicas. Estas, fermentan la glucosa liberada de carbohidratos de reserva y estructurales ingeridos en su alimentación, en una segunda etapa de este proceso se da la transformación de los productos de la hidrólisis, a alcoholes simples y diversos ácidos orgánicos como el acético, el propiónico y el butírico, mediante la participación de bacterias acetógenas. En la tercera etapa se genera el CH_4 , liberándose a través de eructos (Madigan et al., 2004). La producción de CH_4 en el rumen representa energía alimenticia que se transforma en gas y no es aprovechada por el animal (Johnson y Johnson, 1995 y McCaughey et al, 1999) (Figura 1).

Figura 1. Fermentación ruminal para la formación de metano



Fuente: Beauchemin y McGinn, 2011; citado por Muñoz, 2014.

El principal factor biótico a nivel del rumen en la producción de metano son las bacterias anaerobias metanogénicas, si bien constituyen una fracción muy pequeña de la población microbiana total, cumplen una función muy importante, al proveer un mecanismo para eliminar el hidrógeno producido en el rumen. (Henderson et al., 2015). Estas bacterias utilizan diferentes sustratos para la producción de CH₄, pero los principales son el H₂ y el CO₂.

La producción de metano en la naturaleza se da principalmente por dos vías: en el rumen la producción de metano se da principalmente por la primera vía, y la utiliza debido a que requiere menos tiempo para la generación de las poblaciones (4-12 h).



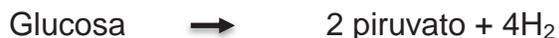
La segunda vía denominada acetilclástica, no tiene tanto efecto debido a que los tiempos de generación para las poblaciones metanógenas deben ser mayores (López *et al.*, 1998; Weimer, 1998).



Las bacterias metanógenas constituyen una clase especial en la población ruminal por su papel en la regulación de la fermentación total al eliminar H₂. Como ya se mencionó, la reducción de CO₂ con H₂ es el método primario por el que se produce CH₄ en el rumen, sin embargo algunas bacterias metanógenas como *Methanosarcina barkerii*, utilizan metanol, metilamina y acetato para producir CH₄. Al mantener baja la concentración de H₂, mediante la formación de CH₄, las bacterias metanógenas promueven el crecimiento de otras especies bacterianas y permiten una fermentación más eficaz (Yokoyama y Johnson KA 1993).

Moss *et al* (2000) señalan que la estequiometría de las principales rutas de fermentación se resumen así:

Reacciones productora de H₂:



Reacciones que utilizan de H₂:

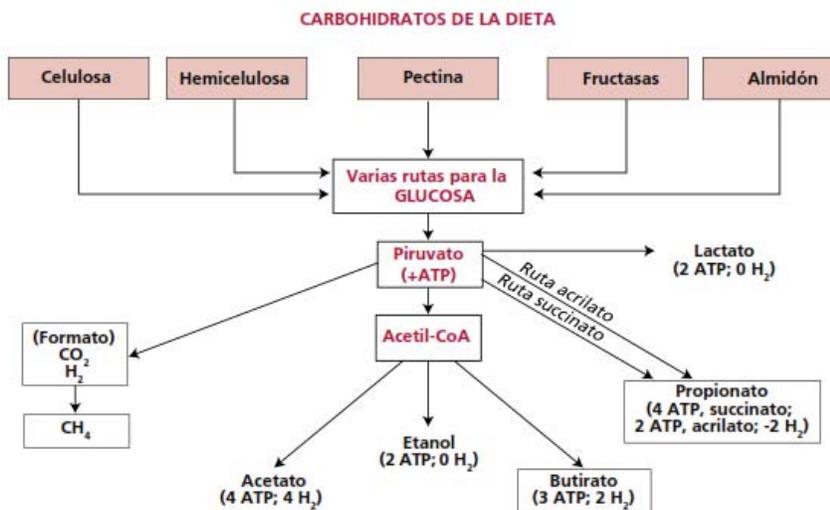


Cuando sustancias reducidas son transferidas de bacterias ruminales fermentadoras de carbohidratos a bacterias metanógenas, el acetato se incrementa y generalmente el propionato disminuye. El acetato es preponderante bajo dichas condiciones pero no se considera precursor significativo de metano en el rumen (Van Kessel y Russel, 1996). Moss et al (2000) al respecto señalan que el acetato y el butirato promueven la producción de metano, mientras que la formación de propionato puede ser considerada como una forma competitiva en el uso del H₂ en el rumen.

En la figura 2 se muestra un esquema de la producción de metano a partir de la fermentación de los carbohidratos de la dieta. El acetato y el butirato promueven la producción de metano, mientras que las fermentaciones propiónicas pueden ser consideradas como una forma de mitigación de las emisiones de metano entérico. La relación acético: propiónico puede variar entre 0,9 y 4,0 por lo tanto las pérdidas por metano varían ampliamente. Cuando se reduce la relación acetato: propionato se inhibe

la metanogénesis debido a la toxicidad de los ácidos de la fermentación hacia la microbiota en su síntesis. Las principales vías de eliminación de hidrógeno son a través de la biohidrogenación de ácidos grasos insaturados, la formación de ácido propiónico y de metano (Van Soest, 1994).

Figura 2. Metabolismo de los carbohidratos en el rumen



Fuente: Van Soest, 1994; Rusell y Wallace, 1997 citado por FAO, 2013

El grupo microbiano responsable de la metanogénesis son la arqueobacterias, microorganismos del dominio Archea (Van Soest, 1994), las principales especies de arqueobacterias son *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobrevibacter arboriphilus*, *Methanobrevibacter smithii*, *Methanobacterium formicicum*, *Methanobacterium bryantii*, *Methanobacterium thermoautotrophicum*, *Methanococcus vannielli*, *Methanococcus voltae*, *Methanomicrobium mobile*, *Methanogenium cariaci*, *Methanogenium marisnigri*, *Methanospirillum hungatei*, *Methanosarcina barkeri* (Klass, 1984 citado por).

La vía principal de la producción de metano por parte de las arqueobacterias es la reducción del CO_2 usando el H_2 por las arqueobacterias, lo que estimula el crecimiento de bacterias ruminales productoras de H_2 como *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Selenomonas ruminantium*. Asimismo, en animales alimentados con altas proporciones de concentrado, se ha observado un papel importante en la metanogénesis por parte de los protozoos ruminales, ya que las arqueobacterias se adhieren a estos permitiendo una transferencia interespecífica de H_2 (Johnson y Johnson, 1995).

Las arqueobacterias son pH dependientes, así, cuando se incuban en un medio a pH 7 reducen el CO_2 y el H_2 a CH_4 , pero la síntesis de metano se reduce cuando el pH baja a 6,5 y se anula a pH 6 (Van Kessel y Russel, 1996). Dietas con forrajes de baja calidad no causan una disminución en el pH ruminal, por lo que están asociados a una alta producción de metano. Mientras que dietas con altos contenidos de alimentos concentrados que induzcan a una reducción del pH en el rumen disminuyen la producción de metano.

2.3. ESTRATEGIAS DE MITIGACIÓN DE LAS EMISIONES DE METANO

2.3.1. Estrategias de Manejo:

2.3.1.1. Selección Genética:

Es bien conocido que la genética del animal es capaz de potenciar la eficiencia productiva de este. De Haas et al. (2011), indican que la producción endógena de metano tiene una base genética, con índices de heredabilidad entre 0,35, para la producción solo de metano endógeno y 0,58 para la producción endógena de metano

por contenido de grasa y proteína, con índice de correlación genética entre la producción de metano de la primera y la última lactación de 0,36. Demostrando estos valores que aunque los efectos ambientales juegan un papel muy importante en la producción de este gas, existe un porcentaje hereditario que tiene una importante influencia. Aunque la selección animal se realiza basada en rasgos como: la producción de leche y la fertilidad, también se puede emplear el efecto de la producción de metano como criterio de selección (Bell, Well, Russell, Simm y Stott 2011). Por otro lado, Yan et al (2010) observaron que al realizar una selección de las vacas basada en altos niveles de producción de leche y la eficiencia de utilización de la energía, se puede reducir las emisiones de CH₄ de vacas lecheras. De esta manera se podría mejorar la producción de leche y a la vez disminuir el impacto ambiental de estas explotaciones.

2.3.2. Estrategias Nutricionales:

2.3.2.1. Uso de concentrados:

La inclusión de alimentos concentrados en la dieta de los rumiantes probablemente disminuirá la intensidad de las emisiones de CH₄ entérico, cabe señalar que generalmente el concentrado ofrece más nutrientes digestibles (por unidad de alimento) que los forrajes. Por lo tanto, es probable que el CH₄ expresado por unidad de producto disminuya, especialmente cuando es por encima del 35 al 40 por ciento del consumo de materia seca (CMS). Sin embargo, el efecto dependerá del nivel de inclusión, la respuesta en la producción, los efectos sobre la digestibilidad de la fibra, la función del rumen, el contenido de grasa de la leche, el plano de nutrición y el tipo de grano y su procesamiento. La complementación de la dieta con pequeñas cantidades de concentrado probablemente incrementará la productividad animal y por lo tanto

disminuirá la intensidad de las emisiones de los GEI, aunque es posible que no se presenten reducciones absolutas de CH₄ (FAO 2013).

Se ha observado que el aumento del nivel de concentrado en la dieta reduce la emisión de CH₄ como proporción del aporte de energía, como se muestra en el trabajo realizado por Benchaar et al. (2001). Estos autores estudiaron el comportamiento del rumen y su respuesta a las diferentes proporciones de concentrado mixto (45% de harina de maíz y 55% de harina de soja) en la dieta sobre la producción de AGV y la producción del metano. Se observó que con una relación forraje: concentrado de 30:70, la eficiencia microbiana ruminal y el pH disminuyeron, resultando en un aumento de la producción del ácido propiónico y una reducción del CH₄ cuando se expresaba tanto en porcentaje de energía bruta ingerida como en porcentaje de energía digestible. También en el mismo estudio, se mostró que la utilización de un concentrado de composición diferente (55 % de harina de soja y 45% de cebada o de pulpa de remolacha) afecta a la producción de metano, que disminuyó hasta un 23 % (EB ingerida o ED) respecto al anterior.

Sin embargo, en este tema la literatura no es coherente. Algunos estudios no han reportado una disminución en la producción de CH₄ (absoluta o por unidad de CMS) aumentando la proporción de alimentos concentrados (por ejemplo, Beauchemin y McGinn, 2006; Popova et al., 2011). En algunos casos, se observó el efecto opuesto, es decir, la producción de CH₄ aumentó (por unidad de CMS al aumentar la inclusión de concentrado en la ración (Islam et al., 2000; McGinn et al., 2006).

Las predicciones con diferencias tan amplias indican que los resultados experimentales varían considerablemente y que para pronosticar las consecuencias de aumentar la proporción de concentrados es necesaria más información sobre la composición química y las características de degradación de los ingredientes constitutivos de las dietas.

2.3.2.2. Calidad y manejo del forraje:

La calidad del forraje, el nivel de concentrado, la digestibilidad de la dieta y el consumo de alimento están interrelacionados y afectan directamente la producción de metano en el rumen, según Blaxter y Clapperton (1965), el aumento del consumo de piensos de baja calidad y menos digestibles tiene poco efecto en la producción de metano cuando se expresa con base en el consumo de materia seca, sin embargo si los alimentos cuentan con una digestibilidad más alta aumenta el consumo de alimento por tanto una baja producción de metano.

2.3.2.3. Ionóforos:

La adición de ionóforos, particularmente la monensina, puede mejorar la eficiencia alimenticia, disminuir la relación acetato: propionato, lo que podría concluir en una reducción de la producción de metano teniendo en cuenta la dosis, la reducción en el consumo de alimento y la composición de la dieta (Johnson y Johnson, 1995; Moss et al., 2000). Por otro lado Van Soest (1994), señala que los ionóforos no son inhibidores directos de las bacterias metanógenas los cuales restringen la producción de hidrógeno y por ende la producción de metano.

2.3.2.4. Aceptores de electrones

Los ácidos orgánicos han demostrado reducir la producción de metano ruminal, especialmente el fumarato, aspartato, malato pueden actuar como aceptores finales de hidrogeno metabólico, reduciendo su disponibilidad para la metanogénesis. Se ha demostrado que al añadir ácidos orgánicos a medios de cultivo inoculados se produce un aumento en la formación de propionato en el rumen, de modo que el hidrogeno al ser destinados a la formación de propionato no puede ser utilizado para la producción de metano (López et al., 2002). Sin embargo, el uso de ácidos orgánicos se ve limitado por el alto costo de estos productos, por tal motivo tal vez tendrían uso práctico cuando existe un incremento en los impuestos por la emisión de gases de efecto invernadero por políticas gubernamentales y otros.

2.3.2.5. Inhibidores:

Dentro de este grupo se encuentran los compuestos más exitosos probados *in vivo* el bromoclorometano (BCM), el 2-bromoetano sulfónico (BES), el cloroformo y la ciclodextrina; los cuales pueden reducir la producción de metano en un 50%, el problema con el BCM, a pesar de ser un excelente inhibidor, es un compuesto que agota la capa de ozono por tanto no es aceptado en muchos países (Histrov, *et al.*, 2013; FAO, 2013).

2.3.2.6. Compuestos secundarios de las plantas:

Recientemente se han sugerido la utilización de extractos de plantas que pueden contener principios activos que modifican la fermentación ruminal reduciendo la

formación de metano (Cardoso, 2005). Algunas plantas o sus extractos pueden contener metabolitos secundarios con potente actividad defaunante que, directamente, reducirían la producción de metano. Los compuestos secundarios de las plantas tales como, taninos, saponinas y aceites esenciales modifican la composición microbiana ruminal (Busquet et al. 2006; Calsamiglia et al. 2007).

Los taninos y las saponinas que han sido ampliamente estudiados muestran el potencial de mitigación más promisorio dentro de esta categoría.

2.3.2.7. Adición de Lípidos:

Johnson y Johnson (1995), señalan que la grasa en la dieta de los rumiantes afecta la producción de metano por diversos mecanismos, incluyendo la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados, el aumento en la producción de ácido propiónico y la inhibición de protozoos. Se ha demostrado que la adición de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga disminuye la metanogénesis porque se convierte en una alternativa metabólica para el hidrógeno.

Sin embargo no se ha establecido bien el potencial de mitigación y en algunos casos podrían aumentar la producción de metano debido al incremento en el consumo de fibra (Histrov *et al.*, 2013; FAO, 2013).

2.3.2.8. Agentes microbianos en la alimentación

La adición de agentes microbianos en la alimentación en forma directa como suplemento es muy común en la producción animal. Los agentes microbianos en la alimentación más usados en la nutrición de rumiantes son los productos basados en

levaduras, estos compuestos parecen estabilizar el pH y estimular la función del rumen, especialmente en el ganado lechero, lo que genera respuestas pequeñas pero consistentes en la productividad animal y en la eficiencia alimenticia, lo que podría significar una reducción moderada de la intensidad de las emisiones de CH₄.

2.3.2.9. Desfaunación

Morgavi *et al.*(2010) calcularon que con la desfaunación se lograba una disminución media de la producción de metano cercana al 10% pero los datos fueron extremadamente variables, se han establecido asociaciones y alimentación cruzada entre los protozoarios y las arqueas del rumen (Vogels *et al.*, 1980; Lee *et al.*, 1987; Finlay *et al.*, 1994), una reducción en la población de protozarios y sus metanógenos asociados puede desencadenar un aumento de la población de bacterias o de los metanógenos asociados al fluido ruminal, contrarrestando así el potencial de la desfaunación para reducir las emisiones de metano (Histrov *et al.*, 2013; FAO, 2013).

2.3.2.10. Inmunización:

Las vacunas contra las arqueas se basan en suministrar anticuerpos al rumen a través de la saliva, estas vacunas han sido exitosas *in vitro* (Wedlock *et al.*, 2010), para que las vacunas sean efectivas deben cubrir la totalidad de la comunidad metanogénica, la reducción de la metanogénesis es del 5 al 10% y se desconoce la persistencia del efecto.

La ventaja de la inmunización está en que actúa de forma rápida pero su limitante estaría en el costo de adquisición de las vacunas y su disponibilidad en el mercado.

2.4. METODO DE MEDICION DE METANO MEDIANTE LA TECNICA DE TRAZADOR DE HEXAFLORURO DE AZUFRE SF₆

La técnica que utiliza SF₆ como trazador para la medición de las emisiones de CH₄ entérico fue desarrollada por Kristen A. Johnson y Hal H. Westberg, en Washington State University, Pullman, Washington, EE.UU (Johnson , et al., 1994). El principal propósito de este método fue para investigar el eficacia energética en ganado al pastoreo (Zimmerman, 1993) a causa de que fue puesto en duda que los resultados obtenidos en las cámaras de respiración no pueden ser aplicadas en ganado al pastoreo (Johnson *et al.*, 1994; Okelly, 1992), esta es una de las ventajas de esta técnica (Pinares-Patiño *et al.*, 2007). El método del trazador de hexafluoruro de azufre fue desarrollado para evitar las limitaciones de las otras técnicas. Esta técnica elimina la necesidad de restringir o encerrar el animal, permitiendo así al animal moverse y pastar libremente; además, no es necesario tomar muestras directamente del rumen del animal o de la garganta. (Johnson, et al., 2007).

Sin embargo algunos investigadores han cuestionado si existen diferencias en los valores obtenidos en pastoreo, para lo cual han realizado comparaciones entre ambas técnicas (Pinares-Patiño et al. 2011, Grainger et al., 2007; McGinn et al., 2006; Lassey, 2007; Boadi y Wittenberg, 2002; Johnson y Johnson 1995; Johnson et al., 1994). Dichos investigadores reportan que no se encontraron diferencias significativas

en los valores promedio de emisión de CH_4 utilizando la técnica en animales en pastoreo en relación a los valores medios obtenidos por calorimetría. A modo de referencia, Grainger et al. (2007) reportan que las emisiones de CH_4 , en vacas lecheras, obtenidas con la técnica de SF_6 fueron similares a las obtenidas en cámaras atmosféricas (331 vs. 322 g de CH_4 /d/vaca, respectivamente).

Dado que la mayoría del metano es eructado y eliminado por la respiración de los rumiantes, la muestra recogida alrededor de la boca y la nariz dará lugar a una estimación precisa de la producción de metano por el animal, la mayoría de metano del intestino grueso se absorbe en el torrente sanguíneo y es eliminado por la respiración, por lo que la técnica de SF_6 medirá también dicha expulsión. (Johnson , et al., 1994)

En relación al trazador utilizado para la medición de las emisiones de CH_4 , este debe satisfacer algunas condiciones (Primavesi, et al., 2004):

- La tasa de liberación de la cápsula debe ser constante y predecible
- El marcador no debe influir en la fermentación ruminal.
- Debe detectarse a bajas concentraciones.
- Debe ser inerte y no debe ser tóxico.

Varios trazadores fueron propuestos y usados para estimar CH_4 pero solo el SF_6 cumple satisfactoriamente con los requisitos propuestos (Johnson, et al., 2007).

En esta técnica, un pequeño tubo permeable que contiene hexafluoruro de azufre (SF_6) se inserta en el rumen. La velocidad de liberación del SF_6 por el tubo de

permeación se conoce antes de la colocación en el animal, El trazador se acumula en el rumen, y es posteriormente liberado por eructos junto con el CH₄. (Pinares Patiño & Clark, 2008).

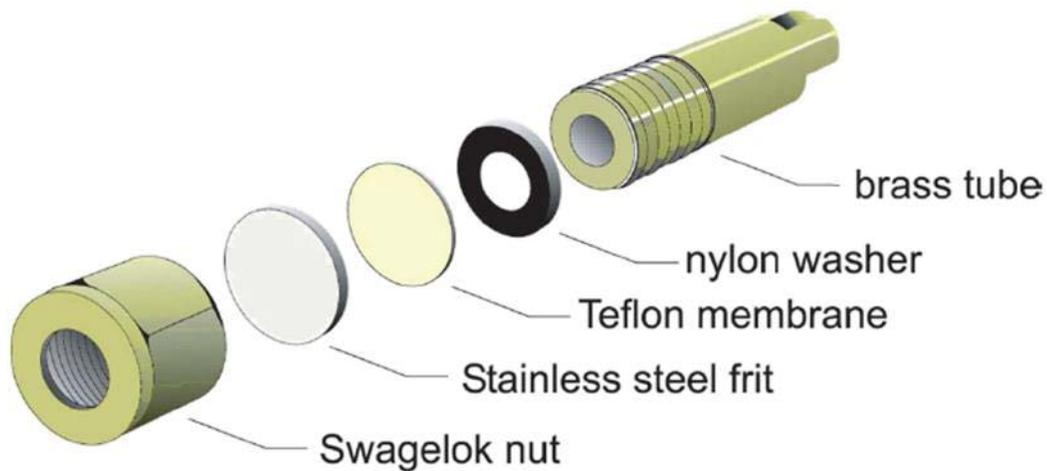
Un cabestro provisto de un tubo capilar se coloca sobre la cabeza del animal y se conecta a un recipiente de muestreo de vacío. Una válvula se abre y se muestrea en el recipiente al vacío y se absorbe lentamente, una muestra del aire alrededor de la boca y la nariz del animal es recogida a una tasa constante. El recipiente de colección permite llenar a una presión de 0,5 atm. Mediante la variación de la longitud y el diámetro del capilar, la duración del muestreo puede ser variada. (Johnson, et al., 2007). Después de recoger una muestra, el recipiente se presuriza con nitrógeno a poco más de una atmósfera, luego las concentraciones de metano y SF₆ se determinan por cromatografía de gases. (Johnson, et al., 2007).

El método del hexafluoruro de azufre (SF₆ por sus siglas en inglés) es usado ampliamente en Nueva Zelanda (Lasseby *et al.*,2011; Lasseby *et al.*,1997; Vlaming *et al.*, 2007,2008; Ramirez-Restrepo *et al.*,2010; Pinares-Patiño *et al.*, 2011), Canadá (McGinn *et al.*,2009; McCaughey *et al.*,1997), Australia (Grainger *et al.*,2010; Goopy y Hegarty, 2004), Brasil (Pedreira *et al.*, 2009), Francia (Pinares-Patiño *et al.*, 2007; Morgavi *et al.*, 2008), Irlanda (Wims *et al.*, 2010), y Estados Unidos (Johnson *et al.*,1994; Tekippe *et al.*,2011) y también países del norte de Europa como Suecia y Noruega emplean este método.

2.4.1. Tubo de Permeación:

Es la capsula emisora de SF₆, el SF₆ liquido es llenado en pequeños tubos de acero inoxidable (figura 4) de un tamaño de 3.2cm por 1.1 cm de diámetro exterior, la cavidad interna es de 4.77 mm de diámetro con una profundidad de 25.4 mm en un extremo y en otro lleva una rosca que permite la fijación de una tuerca junto a una delgada capa de teflón, nylon y una malla de acero inoxidable. (Johnson, et al., 2007).

Figura 3. Estructura del tubo de permeacion



Fuente: Pinares-Patiño, 2014

Los tubos de permeación recientemente preparados son ubicados en una baño de temperatura a 39°C y pesado rutinariamente hasta una tasa de perdida exacta determinada (500-1000 ng de SF₆ /min). Estos dispositivos son colocados en el rumen de la vaca con un disparador de bolos (Johnson *et al.*, 1994).

Los pesos de cada tubo se deben tomar semanalmente para determinar la velocidad de liberación de SF₆, por lo general se requiere cinco a seis semanas para obtener una buena velocidad de tasa de liberación ($r^2 > 0.99$). Los tubos de permeación

se pueden volver a utilizar después de la recuperación del animal. En la mayoría de los casos, una nueva membrana de teflón es todo lo que se requiere para el montaje de otro tubo de permeación. (Johnson, et al., 2007)

2.4.2. Aparato de Muestreo:

El aparato de muestreo consiste de un contenedor de colección de acero inoxidable de 1-L y una línea capilar extendido desde el recipiente de colección a justo por encima de la boca y fosas nasales del animal. El recipiente es sujetado a un collar alrededor del cuello de la vaca; el tubo de acero inoxidable con un diámetro interno de 0,005 sirve como una línea transmisora. Antes de tomar las muestras se genera vacío en el recipiente de colección ($< 200 \mu\text{m}$). Para iniciar la colección de muestras, el recipiente colector es sujeto al collar y conectado a la línea transmisora, y una válvula en el recipiente de colección es abierta. El recipiente vaciado fue llenado a una tasa constante hasta que este alcance cerca de 0,5 atm, y cuando el tiempo de colección es finalizado la válvula del recipiente es cerrada. El tiempo de muestreo es controlado por el largo de la línea capilar transmisora. Se coloca un filtro ($50 \mu\text{m}$) en el extremo final de la línea capilar para protegerla del taponamiento. Antes de analizar el metano y SF_6 , el recipiente debe ser presurizado a 1,5 atm aproximadamente con nitrógeno.

A través de los años por facilidades de manejo y costo el aparato de muestreo ha tenido algunas adaptaciones a partir del modelo propuesto por Johnson (1994), se vienen probando diferentes diseños en términos de materiales como es el PVC y acero inoxidable con diferentes formas (tanque "U", tanque "V", cilindro y tubo) con capacidades o volumen que van desde 0,5 a 2,5 l (Figura 04), los cuales han sido

utilizados por la mayoría de investigadores (Lassey *et al.*, 1997 ; Lovett *et al.*, 2003; McGinn *et al.*, 2006; Grainger *et al.*, 2007) e instituciones en diferentes partes del mundo (Agriculture and Agri-Food, Canadá ; INRA Herbivores, Francia; Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina; Department of Primary Industries, Victoria, Australia; Teagasc and University College Dublin, Irlanda; NIWA and AgResearch, Nueva Zelanda) (Berndt *et al.*,2014; Dini, 2012; Muñoz, 2014).

Figura 4. Formas de los recipientes de colección (tanques)



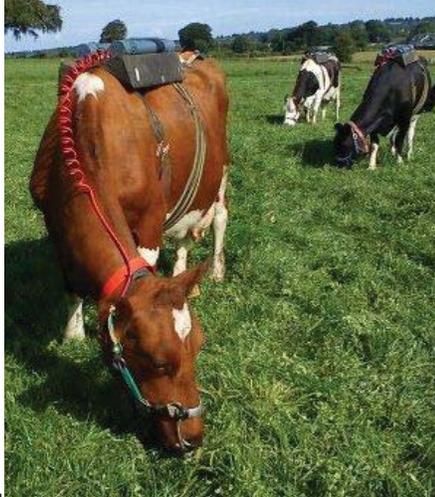
Fuente: Muñoz,2014; Deighton *et al.*, 2014; Berndt *et al.*, 2014

También se ha modificado la forma de llevar los recipientes de colección, algunos centros de investigación (Teagasc and University College Dublin, Irlanda; Department of Environment and Primary Industries, Victoria, Australia) han optado por colocar la montura en la espalda del animal y otros centros colocan los recipientes en

el cuello (Department of Environment and Primary Industries, Victoria, Australia) y en la jáquima (Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires; Department of Environment and Primary Industries, Victoria, Australia)(Deighton *et al.*, 2014; Berndt *et al.*, 2014) (Figura 05).

Figura 5. Posicionamiento de los recipientes de colección





4.



5.

1,3,5. Department of Environment and Primary Industries, Victoria, Australia.

2,4. Teagasc and University College Dublin, Irlanda; Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.

Fuente: Deighton et al., 2014; Berndt et al., 2014

2.4.2.1. Línea capilar:

La línea capilar es un accesorio que permite el llenado del recipiente de colección puesto que lleva la muestra de aliento desde el morro del animal al tanque de almacenamiento, este accesorio consta además de diferentes uniones: con un capilar que es el que controla el llenado del canister mediante un flujo constante, filtro para prevenir la obstrucción del capilar, conector nylon forma "Y" y un conector macho.

Foto 1. Estructura de la línea capilar



Fuente: Muñoz, 2014

El tamaño de la línea capilar es muy importante así como la ubicación de la entrada a través de las fosas nasales es crítica para el éxito de toma de muestras, las muestras de aire son recogidas desde un punto justo por encima de las fosas nasales del animal. Estas vías de entrada de la muestra presentan diferentes modificaciones (Deighton et al., 2014; Pinares-Patiño, 2014) (Figura 7)

Figura 6. Vías de entrada para la recolección de muestras de aire.



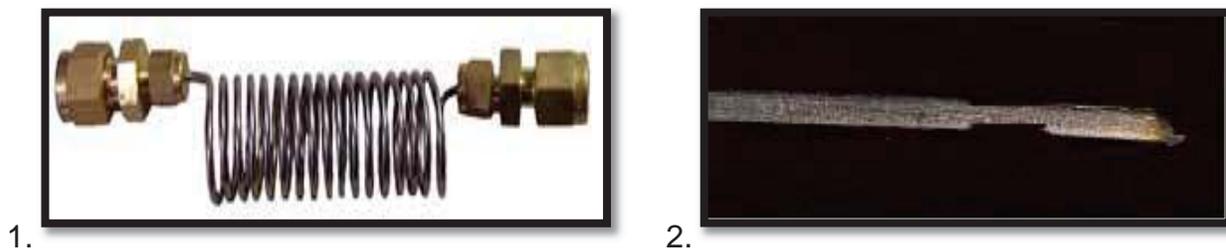
Fuente: Pinares-Patiño, 2014.

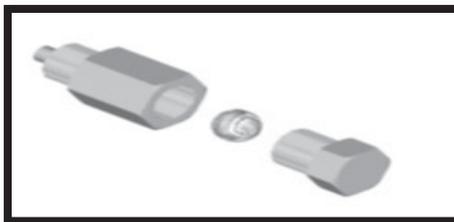
2.4.2.2. Capilar:

La longitud del capilar regula la velocidad de muestreo. Es un tubo de acero inoxidable, tiene un diámetro interior de 0.102 mm y un diámetro exterior de 1,59 mm que sirve como el limitador de flujo y de línea de transferencia. Para regular el flujo del capilar es necesario un crimpeador y para cortar el capilar un cortador de tubo. El uso de esta herramienta asegura que la pequeña abertura del tubo permanezca abierta y el corte es suave (Johnson *et al.*, 2007).

Una modificación fue realizada por el grupo de Físico-química Ambiental de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNICEN), la modificación propuesta radica en el uso de dispositivos ajustados por la compresión de una bolilla de acero contra el borde de un orificio cilíndrico, al disminuir la tasa de ingreso de aire al recipiente, generó la posibilidad de extenderlos periodos de muestreos por varios días. Gere y Gratton (2010); Gere *et al.*(2007) también hicieron una modificación al capilar usado por Johnson *et al.*, 1994, el capilar es corto y ajustado en uno de sus extremos para reducir la tasa de flujo recomendada por el AFBI (vacunos: 0,45 – 0,55 ml/min; ovinos: 0,35 – 0,45 ml/min) el capilar se introduce a un filtro de humedad (Berndt *et al.*, 2014; Dini, 2012; AFBI, 2011) (Figura 08).

Figura 7. Formas de capilares usados para la restricción de flujo





3.

1. *Tubo capilar* - Johnson et al., 1994.

2. *Capilar ajustado* - Wims et al., 2010.

3. *Bolilla de acero* - Gere and Gratton, 2010.

Fuente: Deighton et al., 2014; Berndt et al., 2014

2.4.3. Sistema de Dilución y bomba de vacío (Loop):

Es necesaria una bomba de vacío para evacuar los recipientes, un medidor de presión es necesario para medir la presión después de llenar con una muestra de gas, y un sistema de dilución es necesario para presurizar la muestra con gas nitrógeno. Antes de la toma de muestras, el recipiente de colección debe ser evacuado. Cualquier bomba de vacío capaz de reducir la presión es aceptable. Tras el período de recolección se ha llenado los tanques , luego este se conecta al sistema de dilución y la presión final es introducida. El nitrógeno se añade entonces lentamente hasta que la presión en el recipiente se aumenta a aproximadamente 1,2 atm. La lectura de la presión exacta se registra para calcular el factor de dilución (Johnson et al., 2007).

2.4.4. Análisis de metano:

El aire del recipiente de colección se pasa a través de un circuito de muestreo adjunto a un cromatógrafo de gas (GC). El sistema del GC consiste en un circuito de muestreo, una columna de 1/8 de diámetro interno por 4 pies, y un detector de

ionización de flama, las corridas de los análisis se duplican o triplican con una reproducibilidad generalmente menor que 2%. La calibración del GC está basado en estándares secundarios (1.83 ppm de metano) para los chequeos de rutina.

2.4.5. Análisis de SF₆.-

Un cromatógrafo de gas de captura de electrones es empleado para este análisis. El sistema emplea un circuito de muestreo de gas de 1,0 ml, una columna Colador Molecular 5^a (1/8 diámetro interno x 6 pies), y un detector de laminilla de tritio, el GC tiene un bajo límite de detección de alrededor de 5 pptv, la calibración del sistema para analizar el SF₆ es finalizado con una serie de estándares de diferentes niveles de SF₆ (rango de 29 a 3000 pptv SF₆).

Esta técnica tiene la ventaja de que puede usarse en condiciones normales de pastoreo y se puede obtener información individual de los animales, lo cual permite efectuar diversos tipos de comparaciones; es una buena herramienta para países cuyas emisiones de CH₄ deriven principalmente de ganado en pastoreo, ya que se pueden obtener estimados precisos de las emisiones y desarrollar así opciones apropiadas de mitigación (Ulyatt *et al.*, 1999). Sin embargo, las técnicas con gases trazadores están asociadas a mayor variación que las técnicas calorimétricas estandarizadas (Pinares-Patiño *et al.*, 2008).

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. ÁREA DE ESTUDIO

3.1.1. Ubicación política

El presente trabajo se realizó en el Centro Experimental “La Raya”; ubicado en el Distrito de Marangani, Provincia de Canchis a 178 km de la ciudad del Cusco a 4 313 m.s.n.m.; el análisis de muestras se realizó en el Laboratorio de Cambio Climático y Producción animal, Departamento Académico de Ganadería, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

Región : Cusco

Departamento : Cusco

Provincia : Canchis

Distrito : Marangani

3.1.2. Ubicación geográfica

CE = 19L 279432.49 mE

CN = 19L 8398851.64 mE

3.1.3. Límites

Norte : Marangani

Sur : Layo

Este : La Raya-UNA-PUNO

Oeste : Comunidad Campesina de Occobamba

3.2. DURACIÓN DEL TRABAJO

El presente trabajo tuvo una duración de nueve meses, iniciándose el mes de diciembre del 2014 finalizando el mes de marzo del 2016.

3.3. MATERIALES Y EQUIPOS

3.3.1. Material biológico:

- 05 Vacas de la raza Brown Swiss, cuyas características se presentan en el cuadro 03.

Cuadro 3. Características de las vacas utilizadas

Arete	Fecha de nacimiento	Edad	Peso (kg)	Condición	Estado fisiológico
247	Setiembre/2006	9 años	464	Boca Llena	En producción/vacía
237	Mayo/2006	9 años	440	Boca Llena	En producción/vacía
272	Mayo/2007	8 años	400	Boca Llena	En producción/vacía
277	Setiembre/2007	8 años	426	Boca Llena	En producción/vacía
206	Mayo/2005	10 años	649	Boca Llena	En producción/vacía

- Muestras gaseosas provenientes del rumen de las vacas en mención.
- Muestras de pastos naturales.

3.3.2. Equipos

- Destilador.
- Estufa de secado.
- Horno Mufla.
- Cromatógrafo de gases equipado con detector de captura de electrones e ionización de llama.
- Congelador -10 a -25 °C.
- Ultracongeladora.
- Balanza electrónica de precisión de 0,0001 g.
- Balanza digital de precisión 5 kg/1 g.
- Ultramicrobalanza con precisión de 0,0001 mg.
- Bomba de vacío.
- GPS.
- Flujómetro.

- Bomba Calorimétrica.
- Analizador elemental.
- Extractor de fluidos supercríticos.
- Taladro de mesa.
- Loop para limpieza y evacuación de gases.
- Loop para generar vacío.
- Loop para calibrar capilares.

3.3.3. Materiales

- Segadera.
- Tijeras.
- Bolsas de polipropileno.
- Bolsas de papel.
- Aplicador de bolos.
- Tubos de PVC 3”.
- Codos de PVC.
- Pegamento.

- Cinta bovinométrica.

3.4. METODOLOGÍA

El estudio corresponde a una investigación cuantitativa de tipo correlacional causa-efecto.

Para el presente estudio se utilizó el método del SF₆ desarrollado por Kristen A. Johnson y Hal H. Westberg (1994) y con modificaciones de acuerdo al lugar del estudio y disponibilidad de materiales.

3.4.1. Calibración de tubos de permeación:

Los tubos de permeación utilizados fueron diseñados por Lassey *et al.*, (2001) basado en el propuesto por Johnson *et al.*, (1994).

Para la calibración de los tubos, estos se pesaron semanalmente hasta lograr la tasa de permeación adecuada ($R^2=0.999$), manteniendo una misma rutina. Durante el proceso de calibración los tubos son almacenados en un horno a 39°C simulando la temperatura del rumen del animal, se anotó el peso de cada tubo de permeación considerando 04 decimales, así como la fecha y la hora en que se pesan. Para pesar los tubos se usó guantes, gorras quirúrgicas de descarte y barbijos para evitar la contaminación a los tubos.

El procedimiento utilizado para calibrar los tubos de permeación se realizó en dos etapas:

Primera etapa: El pesaje de cada tubo de permeación (25 unidades) fue realizado durante 52 semanas (febrero del 2014 a marzo del 2015), estos tubos no fueron utilizados ya que los datos obtenidos al revisar la tasa de liberación no cumplían con los requisitos mínimos por lo tanto fueron descartados (Anexo I).

Segunda etapa: En esta etapa de calibración se utilizó otros 25 tubos de permeación los cuales estuvieron congelados a -86°C hasta el periodo de calibración que empezó cuando los tubos se acondicionaron a 39°C .

Los tubos fueron pesados durante 21 semanas (marzo a julio del 2015) de los cuales se seleccionaron se seleccionaron 4 tubos al ver que cumplían las condiciones mínimas para ser insertados en el rumen de los vacunos, estos tubos tienen las siguientes características que se presentan en el Cuadro 04.

Cuadro 4. Características de los tubos de permeación seleccionados

N° Tubo	Carga de SF₆ (g)	Tasa de permeación (mg/d)	R²
A01	2,1530	1,711	0,99338
G3	2,0925	2,5929	0,99895
G27	1,9266	2,1470	0,99971
G18	2,1244	2,0483	0,99973

3.4.2. Construcción y evaluación de tanques

Los diseños elegidos para el aparato de colección fueron de dos tipos, el primero consiste en el tanque en forma de “V” de PVC con una capacidad de 2,5 l construido a

partir de dos tubos de PVC de 500 mm de largo con diámetro de 63 mm unido con un codo usando pegamento especial para PVC, moldeado en un horno a 120°-135°C por 5-10 minutos, basado en el modelo modificado por NIWA y AgResearch-Nueva Zelanda (Figura 9), estos tanques fueron proporcionados por INIA Remehue– Chile.

Foto 2. Tanque en forma de “V” de PVC



El segundo diseño usado fue el tanque en forma de tubo de 2 l de capacidad (Figura 10), contruidos de la siguiente manera:

- a) Cortar los tubos de PVC de 3” de diámetro cada 40 cm.
- b) Lijar los extremos y pegar las tapas con pegamento especial para PVC.
- c) Dejar secar por 24 hrs, taladrar un extremo del tanque y colocar un conector hembra Swalegok unido a través de un codo y teflón de la misma marca.

El número de tanques en forma de “V” fue de 4; los tanques en forma de tubos de 2 l de capacidad fueron 98 de los cuales se seleccionaron 12 al hacer la evaluación.

Adicionalmente se construyeron 4 tanques con medida de 30 cm de largo (1,5 l de capacidad) para poder ser utilizados en el muestreo del ambiente.

El periodo de construcción de tanques fue durante el mes de febrero del 2015.

Foto 3. Tanques en forma de cilindro



La evaluación de los tanques se realizó en tres etapas, la primera fue en laboratorio el cual se siguió de la siguiente manera:

- a) Generar vacío a una presión de 600 mbar a cada tanque preparado a través del loop para generar vacío.
- b) Evaluar a las 24, 48, 72, 96, 130 h (5 días)
- c) Los tanques que tuvieron una pérdida de flujo mayor al 40% durante la evaluación fueron descartados (Anexo II).

La segunda evaluación se realizó a nivel de campo de los cuales los tanques en forma de “V” fueron descartados a los 2 días ya que presentaron fugas en este periodo, por lo tanto se tuvo que reemplazar por tanques con capacidad de 1,5 l.

3.4.3. Preparación y calibración de líneas capilares:

3.4.3.1. Capilares

Se utilizaron capilares cortos de 3 cm de longitud, los cuales se obtuvieron a partir de cortar el rollo de capilar de acero inoxidable con 0,102 mm (proveniente del instituto AgResearch – Nueva Zelanda).

Los capilares tuvieron que ser ajustados a través de un flujómetro para que el flujo obtenido sea de 0,70 – 0,75 ml/min el cual se tomó a partir del flujo recomendado por el AFBI (Agri-Food and Biosciences Institute) que recomienda 0,45 – 0,55 ml/min en condiciones a nivel del mar.

3.4.3.2. Línea capilar

La línea capilar se construye a partir de una manguera de nylon de 1/8” de diámetro (proveniente del instituto AgRsearch - Nueva Zelanda), una vez realizado el corte de la línea capilar en uno de los extremos se colocara el filtro y capilar, los cuales en uno de los extremos de entrada del filtro se cerraran utilizando un conjunto de tuerca y férula Swagelok , al otro extremo del filtro se colocara el conector en “Y”. Para el otro extremo de la línea capilar se colocó un conector macho de conexión rápida usándose también un conjunto de tuerca y férula Swagelok.

El periodo de construcción de la línea capilar fue desde el mes de marzo del 2015.

3.4.3.3. Evaluación de línea capilar

La evaluación se llevó a cabo durante el mes de abril del 2015, el procedimiento que se utilizó fue el siguiente (Figura 11):

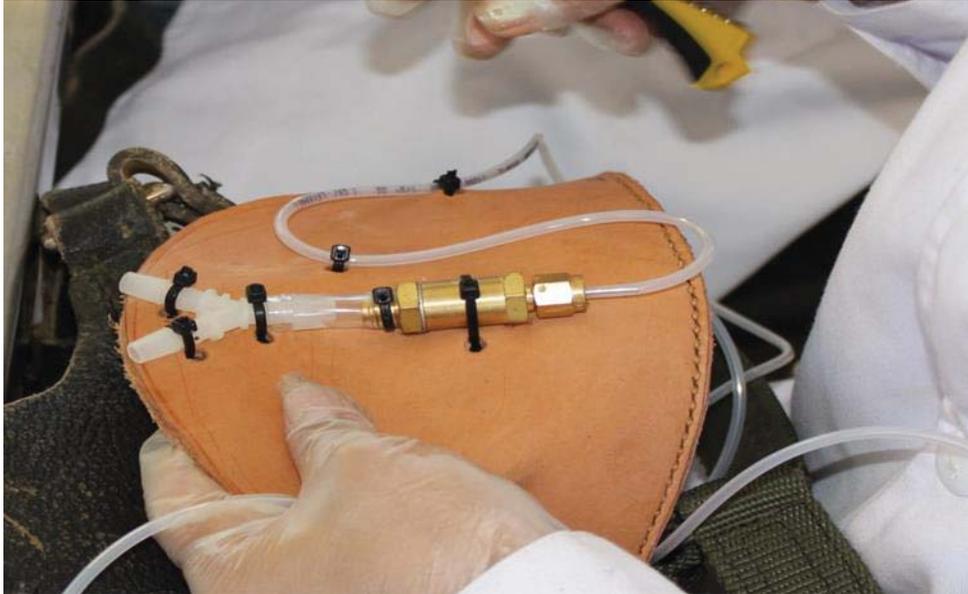
- a) Generar vacío (600 mbar) a un tanque aprobado previa evaluación, a través de una bomba y un loop para generar vacío.
- b) Unir al tanque y revisar a las 24 h por un periodo de 5 días.
- c) Descartar las líneas que permitan que el tanque tenga una pérdida de flujo mayor al 10% (Anexo III).

Foto 4. Evaluación de líneas capilares



Una vez terminada la calibración de las líneas capilares estas fueron ubicadas en la jáquima (Figura 12).

Foto 5. Colocación de la línea capilar en la Jáquima



3.4.4. Mochila Modificada:

Se diseñó una mochila con medidas de 60 cm ancho por 40 cm de largo en la que se colocó los recipientes de colección, la que permitía el fácil manejo de los tanques durante la evaluación.

3.4.5. Selección y adiestramiento de animales:

Para realizar la selección de los animales primero se hizo la obtención de los registros observándose que el Centro Experimental “La Raya” contaba con un total de 44 vacas (en seca y producción).

Los animales seleccionados según los registros fueron 23, de los cuales 13 vacas tenían la edad entre 4 y 5 años, las otras 10 vacas tenían una edad promedio de 8 años y medio como se muestra en el Anexo IV.

Una vez seleccionados los vacunos se procedió a realizar el adiestramiento, adaptando a los animales al aparato de muestreo, en primer lugar fueron colocados las jáquimas de cuero el siguiente paso fue colocarles la mochila contenedora de tanques para poder hacer los ajustes en cuanto a medida y material de la misma, de este periodo se obtuvo un diseño de una mochila.

De los 23 vacunos seleccionados de acuerdo a la adaptación y acostumbramiento del aparato de muestreo se descartó todo el lote de las vacas con edad de 4 y 5 años, del segundo lote de 10 vacas con edad promedio de 8 años y medio fueron seleccionados 5 cuyas características fueron mostrados anteriormente (Cuadro 3).

Cuadro 3. Características de las vacas utilizadas

Arete	Fecha de nacimiento	Edad	Peso (kg)	Condición	Estado fisiológico
247	Setiembre/2006	9 años	464	Boca Llena	En producción/vacía
237	Mayo/2006	9 años	440	Boca Llena	En producción/vacía
272	Mayo/2007	8 años	400	Boca Llena	En producción/vacía
277	Setiembre/2007	8 años	426	Boca Llena	En producción/vacía
206	Mayo/2005	10 años	649	Boca Llena	En producción/vacía

El periodo de adiestramiento de los animales fue desde el mes de febrero a junio del 2015.

Foto 6. Animal con el aparato de muestreo



3.4.6. Aplicación de tubos de permeación:

Siete días antes de iniciarse la colección de muestras se colocaron los tubos de permeación que contienen hexafluoruro de azufre, las cuales fueron introducidas a 4 de las 5 vacas seleccionadas ya que una de ellas fue escogida para ser la muestra “Blanco”, cuadro 5.

Cuadro 5. Registro de aplicación de tubos a las vacas

Arete N°	Peso (kg)	Hora de aplicación	Cod.Tubo de SF₆
237	440	09:58 a.m.	A01
272	400	10:02 a.m.	G3
277	426	10:11 a.m.	G18
206	649	10:17 a.m.	G27

La aplicación de los tubos se realizó el 24 de julio del 2015.

3.4.7. Muestreo de campo

3.4.7.1. Muestreo de gases

Los gases provenientes del rumen de las vacas fueron contenidos en los tanques de colección por 24 h y transportados al Laboratorio de Cambio climático y producción animal ubicado en el Centro Agronómico K'ayra.

El periodo de muestreo de gases fue realizado en dos periodos de medición de acuerdo al tratamiento, inicialmente el tratamiento con ensilado de avena comenzando desde el 4 al 8 de agosto del 2015, después de una pausa se retomó el muestreo desde el 12 al 21 de agosto del 2015, el tiempo total fue de 12 días de los cuales se descartaron los primeros 3 días.

Seguidamente el muestreo correspondiente al tratamiento con concentrado se llevó a cabo desde el 25 de agosto al 4 de setiembre del 2015, teniendo un total de 9 días de muestreo.

3.4.7.2. Análisis cromatográfico

Las concentraciones de CH₄ y SF₆ fueron determinadas por cromatografía gaseosa en el laboratorio de Nutrición Animal y Emisiones de Metano de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNSAAC).

La concentración de metano en el recipiente de muestreo se determina mediante cromatografía de gases (GC) con un detector de ionización de llama, según el método

de Johnson. Cada análisis se completa en tres minutos. Duplicado o triplicado los análisis debe exhibir la reproducibilidad de 2% o ligeramente superior. La calibración de GC se basa en una muestra de metano de referencia estándar.

El hexafluoruro de azufre se mide utilizando un cromatógrafo de gases equipado con detector de captura de electrones. La muestra se inyecta en la columna de GC a través de una válvula de toma de muestras bajo volumen muerto de gas y un 1,0 cc bucle de gas. Contando con un 3,17 mm x 1,83 m. con un tamiz molecular (40-60 de malla), una columna en el rango de 40 a 50°C opera isotérmicamente, tres veces consecutivas (77 ppbv, partes por billón en volumen) de análisis se muestra de SF₆.

3.4.8. Régimen de alimentación:

La investigación se basa en la medición del metano en condiciones de pastoreo con suplementación nutricional por tanto a las vacas seleccionadas se le suministró adicionalmente concentrado a su dieta basada en el consumo de pasto y ensilado de avena, teniéndose así dos tratamientos:

Tratamiento 1: pastura natural + ensilado

Tratamiento 2: pastura natural + ensilado + concentrado

3.4.8.1. Consumo de pastura nativa:

Antes de iniciarse el experimento se realizó el cálculo de disponibilidad forrajera (Cuadro 06) en el Sector denominado “Huaracóni”, que se hizo tomando el área a través de un GPS, y las muestras visuales (99) arrojando el cuadrante al azar por toda la zona.

Cuadro 6. Disponibilidad forrajera sector Huaracóni

Área (ha)	Rdto, kg/ha	Rdto. total, kg	Asociación Vegetal
27,61	3 546,02	97 936	Chillihuar

Las vacas seleccionadas fueron pastoreadas en este sector durante el periodo experimental.

3.4.8.2. Suministro de ensilado:

El ensilado de avena formó parte de la dieta de los vacunos debido a la temporada de evaluación (secas) en el cual los pastos naturales son insuficientes en cantidad y calidad por tanto se reduce su consumo.

Se proporcionó 25 kg/día de ensilado por vaca en promedio.

3.4.8.3. Suplementación con Concentrado:

Se suministró concentrado a la dieta base para lo cual se tuvo que atar a las vacas al comedero cada día a las 8:00 am (después del ordeño), el concentrado ofrecido tenía como materia prima subproducto de trigo, cebada grano, maíz molido, torta de soya, coronta molida y sales minerales (cuadro 7).

Cuadro 7. Ingredientes e información nutrición del concentrado

Formula de concentrado (%)	
Subproducto de trigo	50.00
Cebada grano	26.43
Maíz molido	10.00
Torta de soya	8.04
Coronta molida	3.00
Sales minerales	1.00
Sal común	1.00
Carbonato de calcio	0.53
Contenido Nutricional	
Mat. Seca	89.06
NDT	69.48
Proteína	15.02
Fibra	10.56
Calcio	0.70
Fosforo	0.44
EN (Mant.)	1.65 Mcal/kg
EN(Gan)	1.08 Mcal/kg
EN(Lact.)	1.65 Mcal/kg
Vit. A	0.93 U.I.

El periodo de adaptación a la nueva mezcla fue de 5 días; en la cual se ofreció gradualmente el concentrado desde 0.500 g/vaca/día hasta 2.500 kg/día/vaca. Desde el 6° día se inicia la toma de muestras.

3.4.8.4. Análisis de alimentos

El análisis de los resultados fue llevado a cabo en el Laboratorio de Cambio Climático y Producción animal (octubre del 2015 a marzo del 2016).

Se determinó la energía bruta, materia orgánica, materia seca, proteína de las muestras de pastos y ensilado de avena recolectados en el lugar de muestreo (Anexo XIV)

3.4.8.4.1. Energía bruta

El análisis de energía se realizó en una bomba calorimétrica, las muestras de pastos y ensilado provenientes del lugar de estudio (Centro experimental “La Raya”) fueron procesadas en base a los requisitos que necesita la bomba calorimétrica, los cuales son:

- a) Las muestras deben estar molidas y secas para hacer pellets, el peso de los pellets deben ser 0,5000 a 1,5000 g.
- b) La muestra es ingresada al equipo, que a través de 25 a 30 atmosferas de oxígeno es quemada completamente en un periodo aproximado de 9 minutos.
- c) Al transcurrir los 9 minutos los resultados son expresados en cal/gr.

La fórmula que utiliza el equipo para la determinación de la EB es:

$$EB \text{ cal/gr} = \frac{WT - e1 - e2 - e3}{m}$$

Donde:

- W: Energía equivalente del calorímetro siendo usado.
- T: Incremento de temperatura.
- e1: Calor producido por quema de la porción de aire atrapado en la bomba en forma de ácido nítrico.
- e2: Calor producido por la formación de ácido sulfúrico.
- e3: Calor producido por el alambre (conductor eléctrico) y el hilo de algodón.
- m: Peso de la muestra.

3.4.8.4.2. **Materia orgánica**

El análisis fue realizado en un horno mufla a una temperatura de 600° C por un periodo de 10 hrs, el peso de la muestra seca y molida fue de 2 a 3 g.

La determinación de materia orgánica se hizo a través de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ MO} = \frac{\text{Peso muestra seca} - \text{Peso ceniza}}{\text{Peso muestra seca}} * 100$$

3.4.8.4.3. **Materia seca**

El análisis fue realizado mediante un analizador de humedad, donde se ingresó aproximadamente 3 g de muestra picada, el resultado es expresado en porcentaje de humedad del cual se puede obtener la materia seca por diferencia:

$$\% \text{ MS} = 100 - \% \text{Humedad}$$

Para que el resultado sea expresado en % Humedad el equipo sigue la siguiente fórmula:

$$\% H = 100 - \frac{\text{Peso inicial} * 100}{\text{Peso final}}$$

3.4.8.4.4. Proteína

Se utilizó un analizador elemental de nitrógeno (marca Perkin Elmer, modelo 2400, serie II) el equipo requiere 2 mg de muestra en polvo el cual fue contenido en unos viales de 9 x 2 mm, la duración del análisis fue de 5 min/muestra, las condiciones de temperatura de combustión, reducción y del horno son de 950°, 640° y 82°C respectivamente.

Para determinar el porcentaje de la proteína cruda se siguió la siguiente fórmula:

$$\% PC = \% \text{Nitrógeno} * 6,25$$

3.4.9. Cálculo de metano (CH₄)

Para determinar la cantidad producida se utilizó el modelo de cálculo siguiente (INIA Remehue – Chile) (ver Anexo V):

$$\text{CH}_4 \text{ (g/día)} = \frac{[\text{CH}_4 \text{ tanque} - \text{CH}_4 \text{ ambiente}]}{[\text{SF}_6 \text{ tanque} - \text{SF}_6 \text{ ambiente}]} * \text{SF}_6 \text{TP}$$

3.5. DISEÑO ESTADÍSTICO PARA EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS

El análisis de los resultados se hará en base a la estadística descriptiva, se aplicaran diseños experimentales de DCA y prueba de significancia de Duncan al 5% (Calzada, 1964).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = Variable respuesta.

μ = La media general.

τ_i = El efecto del i-enésimo tratamiento (alimento).

ε_{ij} = El efecto del error experimental.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CANTIDAD DE METANO PRODUCIDO (CH₄, g/día)

Al análisis de varianza (ANVA) no se encuentran diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($p>0,05$) (Anexo VI) sin embargo los mayores niveles de emisión se registraron en el tratamiento de ensilaje y pastos naturales sin suplementación de concentrado (Duncan 5%) lo que implicaría que la utilización de concentrado permite reducir las emisiones de metano (Cuadro 8).

Cuadro 8. Metano producido por tratamiento (CH₄, g/día)

Tratamiento	Media	CV	D.E	Signif.
Ensilado	578,71	32,76	345,42	a
Concentrado	407,07	32,76	243,63	a

Este hecho podría estar atribuido a que como indican Johnson y Johnson, (1995), Moss et al. (2000), Kurihara et al. (1999) y Martin et al. (2006), los concentrados ricos en almidón (cebada, trigo, maíz) tienen un efecto depresivo sobre la metanogénesis, ello debido a que estas dietas favorecen la producción de propionato y se disminuye la relación metano/ materia orgánica fermentada en el rumen, que es lo que habría sucedido en el presente estudio donde las emisiones de CH₄ se vieron disminuidas cuando las vacas consumieron concentrado adicional a su dieta basada en ensilado y pastos naturales.

El resultado obtenido con el tratamiento del ensilado (578,71 CH₄, g/día) está por encima de los valores reportados por Dini, 2012 (368 CH₄, g/día), Waghorn *et al.*, 2003; Westerg *et al.*, 2001 (345-388 CH₄, g/día) y Swainson *et al.*, 2008 (140 CH₄, g/día) en condiciones de pastoreo exclusivo y con la misma metodología utilizada en esta investigación.

Probablemente estas variaciones se deberían a que la calidad nutricional (principalmente el contenido de fibra) de los pastos cultivados son menores a de los pastos naturales los cuales tienen un comportamiento parecido de las plantas C3 (gramíneas forrajeras) que según Hammond *et al.* (2011), Vlaming (2008), Waghorn y Woodward (2006), su consumo conduce a una mayor emisión de CH₄ comparado a la incorporación de pasturas de forrajes de alta calidad nutricional (leguminosas), cuando las pasturas son en base a gramíneas sembradas se da una mayor pérdida de energía bruta ingerida como CH₄ en relación a la obtenida en predominio de leguminosas, ya que, las gramíneas proporcionan mayores niveles de fibra que estimulan la rumia, menor tasa de pasaje y mayor tasa de fermentación, con altos niveles de acético e H₂ todo lo cual afecta la metanogénesis (Waghorn y Woodward, 2006), las variaciones de los resultados también se ven influenciadas por las características genéticas y peso vivo del animal.

4.2. CANTIDAD DE METANO PRODUCIDO (CH₄, l/día)

Al análisis de varianza (ANVA) no se encuentran diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) donde el tratamiento con concentrado fue menor respecto al tratamiento con ensilado (Anexos VIII, Cuadro 9) los cuales tienen la misma tendencia de la cantidad de metano expresado en g/día.

Cuadro 9. Metano producido por tratamiento (CH₄, l/día)

Tratamiento	Media	CV	D.E	Signif.
Ensilado	882,54	32,76	526,76	a
Concentrado	620,77	32,76	371,54	a

Los datos obtenidos para esta unidad de medida son para el caso del ensilado (882,54 CH₄, l/día) y para el tratamiento concentrado (620,77 CH₄, l/día), estos resultados son superiores a los reportados por Johnson y Johnson (1995), quienes son el referente para el presente estudio con una producción de 250 – 500 CH₄, l/día, Jouany (1994) indica una producción de 300 – 600 CH₄, l/día, Czerkawski (1969), Holter y Young (1992), Mc Allister *et al.*(1996) en sus investigaciones realizadas con la técnica *in vitro* (RUSITEC) con una dieta en base a forrajes reportaron 150 – 420 CH₄, l/día, por colección directa (fístula) Berra *et al.*(2007) indica que la producción fue de 247 CH₄, l/día con consumo de alfalfa y cebadilla.

Probablemente este hecho se debería principalmente al factor nutricional, como es explicado anteriormente, debido a la dieta consumida en base a pastura natural y ensilado de avena que contienen una baja calidad nutricional, por otro lado estas

diferencias de resultados también puede ser atribuido a las diferentes técnicas de medición del metano.

Por otro lado el valor obtenido con el tratamiento de concentrado es superior al registrado por Marik y Leving (1996) que indican una producción de 441 CH₄ l/día en vacas lecheras con una dieta de 2 kg de heno, ensilaje de 40 kg, 3,2 kg de alimento concentrado, y 1,7 kg de grano, usando el método de trazador de SF₆.

4.3. CANTIDAD DE METANO PRODUCIDO (CH₄, g/kg PV/día)

Al análisis de varianza (ANVA) no se encuentran diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos (Anexo X, Cuadro 10) y con la prueba de significancia de Duncan (5%) se observa que el tratamiento concentrado es menor al tratamiento con ensilado, lo que implicaría que la utilización de concentrado permite reducir las emisiones de metano diaria en gramos por cada kilogramo de peso vivo de las vacas.

Cuadro 10. Metano producido por tratamiento (CH₄, g/kg PV/día)

Tratamiento	Media	CV	D.E	Signif.
Ensilado	1,23	34,77	0,83	a
Concentrado	0,85	34,77	0,49	a

Lamentablemente, no se encontró información disponible para la comparación con nuestro experimento. Por lo tanto, nos limitaremos a decir según los datos la media

del tratamiento con ensilado es 1,23 CH₄, g/kg PV/día, el cual es casi el doble de la media del tratamiento con concentrado (0,85 CH₄, g/kg PV/día).

4.4. CANTIDAD DE METANO PRODUCIDO (CH₄, g/kg MS)

Al análisis de varianza (ANVA) y prueba de Duncan al 5% no se encuentran diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($p > 0.05$) (Anexo XII, Cuadro 11) sin embargo los mayores niveles de emisión de metano fueron registrados con el tratamiento de ensilaje y pastos naturales sin la suplementación de concentrado.

Cuadro 11. Metano producido por tratamiento (CH₄, g/kg MS)

Tratamiento	Media	CV	D.E	Signif.
Ensilado	41,08	34,77	27,62	a
Concentrado	28,47	34,77	16,38	a

Los resultados de este estudio en el caso de ambos tratamientos son superiores a los reportados por autores como Pedreira *et al.*(2009) con 23.2 CH₄, g/kg MS y Cavanagh *et al.*(2008) con 18.2 CH₄, g/kg MS en vacas Jersey x Friesian.

Por otro lado se puede observar que el valor promedio de la emisión de CH₄, g/kg MS del tratamiento con pastos naturales y ensilaje (41.08 g/kg MS) es elevado comparado al valor obtenido por Botero *et al.* ,(2015) en su estudio en Colombia con vacas Holstein al pastoreo en trópico de alto y trópico bajo (21.7 vs 21.9 CH₄ g/kg de MS) usando el método del politunel , esta diferencia de resultados puede ser atribuido al uso de técnicas de medición del metano y medio ambiente.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las que se realizó el presente estudio, se concluye en lo siguiente:

1. La producción de metano en vacas con dieta a base de ensilado de avena y pastos naturales fue de 578,71 CH₄, g/día ó 882,54 CH₄, l/día; en cuanto a la expresión CH₄ g, kg PV/día la producción fue 1,232 y por kilogramo de materia seca consumida fue 41,09 CH₄, g/kg MS.

2. La producción de metano en vacas con dieta a base de ensilado de avena, pastos naturales con suplementación de concentrado fue de 407,07 CH₄, g/día ó 620,77 CH₄, l/día; en cuanto a la expresión CH₄ g, kg PV/día la producción fue 0,85 y por kilogramo de materia seca consumida fue 28,47 CH₄, g/kg MS.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda seguir realizando estudios para emplear el concentrado como suplemento nutricional a dietas que producen mayor cantidad de metano por su baja calidad nutricional ya que disminuye la intensidad de las emisiones de metano entérico y además de incrementa la productividad animal
2. También se sugiere seguir realizando estudios principalmente sobre niveles de inclusión de concentrado en la dieta para establecer de mejor manera el incremento de la productividad animal en un sistema de pastoreo.
3. Se sugiere realizar el presente estudio en época de lluvias.
4. Se recomienda mejorar las técnicas de muestreo con la utilización de sub muestreo (viales) para análisis posterior en laboratorio.

CAPITULO VI

BIBLIOGRAFÍA

AFBI-INSTITUTE, A.-F. A. 2011. SF6 Guidelines. Guia practica., Institute, Agri-Food and Biosciences (AFBI), Hillsborough.

ABDALLA AL, BUENO ICS, PEÇANHA MRSR, LONGO C, GODOY PB, SALLAM SMA, CASTI LHO LA, 2007. In vivo methane determination in a small chamber system. Proc Greenhouse Gases Anim Agric Conf (GGAAC). New Zeland.:xviii–xviv.

BAKKER , M., GORDON , I., & MILNE, J. 1997. Effects of sward structure on the diet selected by guanacos (*Lama guanicoe*) and sheep (*Ovis aries*) grazing a perennial ryegrass- dominated sward. . Grass and Forage Science., 53, 19-30.

BENCHAAR, C., POMAR, C. AND CHIQUETTE, J. 2001. Evaluation of dietary strategies to reduce methane production in ruminants: A modelling approach. Canadian Journal of Animal Science 81: 563-574.

BERRA G, VALTORTA SE, FINSTER L, MANGANO E, BARRERA F, FRAIGI L, 2007. A simple technique for measuring enteric methane emissions in cows. GGAAC. New Zeland.:xxvii–xxviii.

BLAXTER KL, CLAPPERTON JL, 1965. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. Br J Nutr; 19:511–522

BERNARDO ROQUE, ÁNGEL CANALES, JOSÉ LUIS BAUTISTA, MARCELINO JORGE ARANÍBAR, JOSÉ AMADEO FLORES, LEONIDAS ÁVALOS, ROLANDO DANIEL ROJAS, NUBIA LILIA CATACTORA, REGINA SUMARI, TEODOSIO HUANCA, POLICARPO CATACTORA, CÉSAR PINARES, 2012 . Mitigación de las emisiones de metano entérico en vacas lecheras mediante la suplementación de concentrado fibroso.

BERNDT, A., T. M. BOLAND, M. H. DEIGHTON, J. I. GERE, C. GRAINGER, R. S. HEGARTY, A. D. WAASA, J. P. KOOLAARD, K. R. LASSEY, D. LUO, R. J. MARTIN, C. MARTIN, P. J. MOATE, G. MOLANO, C. PINARES-PATIÑO, B. E. RIBAU, N. M. SWAINSON, G. C. WAGHORN, AND S. R. O. WILLIAMS. 2014. Guidelines for use of sulphur hexafluoride (SF6) tracer technique to measure enteric methane emissions from ruminants. Pages 166. M. G. Lambert, ed. New Zealand Agricultural Greenhouse Gas Research Centre, New Zealand.

BONILLA J, LEMUS C, 2012. Emisión de metano entérico por rumiantes y su contribución al calentamiento global y al cambio climático. Revisión .GLOBALRev Mex Cienc Pecu;3(2):215-246

CAVANAGH A.; MCNAUGHTON L.; CLARK H.; GREAVES C.; GOWAN JM; PINARES-PATIÑO C.; DALLEY D.; VLAMING B.; MOLANO G. 2008 Metano emisiones pasten Jersey x vacas lecheras frisonas a mediados de la lactancia. Australian Journal of Experimental Agricultura, v.48, p.230-233.

- CRUTZEN, P. J., I. ASELMANN, AND W. SEILER, 1986 Methane production by domestic animals, wild ruminants, other herbivorous fauna, and humans, *Tellus Ser. B*, 28, 271-284.
- DIJKSTRA, J, VAN ZIJDERVELD, S.M, APAJALAHTI, J.A, BANNINK, A, GERRITS, W.J.J, NEWBOLD, J.R, PERDOK, H.B & BERENDS, H, 2011. Relationships between methane production and milk
- DINI VILAR YOANA, 2012. Emisión de metano entérico de vacas lecheras en pastoreo de praderas dominadas por gramíneas o por leguminosas. Tesis de Maestría.
- DEHORITY BA, TIRABASSO PA, 2000. Antibiosis between ruminal bacteria and ruminal fungi. *Appl Environ Microbiol*;66(7): 2921-2927.
- DOREAU, M., H. M. G. VAN DER WERF, D. MICOL, H. DUBROEUCQ, J. AGABRIEL, Y. ROCHETTE, AND C. MARTIN, 2011. Enteric methane production and greenhouse gases balance 89 of diets differing in concentrate in the fattening phase of a beef production system. *J. Anim. Sci.*, 89:2518-2528
- FAO, 2010 (Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). *Greenhouse Gas Emissions from the Dairy Sector: A Life Cycle Assessment*. Roma, Italia.
- FONTY G, 1991. The rumen anaerobic fungi. In: JOUANY, JP. *Rumen microbial metabolism and ruminant digestion*. INRA editions, Paris, France, pp 53-70.

- FERNANDEZ C., M., GARCIA O., M., & GÓMEZ B., C. 2007. Emision de metano proveniente de diferentes sistemaas de produccion animal en el Perú: implicancias nutricionales. MV Revista de Ciencias Veterinarias, 23(4), 22-23.
- GARCIA MIRIAM, MALPARTIDA EFRAÍN, GOMEZ CARLOS, 2007. Estimate of methane emissions - enteric fermentation and manure management - from livestock in Perú.
- GÓMEZ, C.VARGAS J. Y FERNÁNDEZ M., 2005. Perú: Milk production fact sheet. In Hemme.
- GÓMEZ C., F. M. 2008. Methane emissions from enteric fermentation of representative dairies in Peru in relation to economic performance.
- GRAINGER C, CLARKE T, MCGINN SM, AULDIST MJ, BEAUCHEMIN KA, HANNAH GC, WAGHORN GC, 2007. Methane emissions from dairy cows measured using the sulfur hexafluoride (SF₆) tracer and chamber techniques. J Dairy Sci;90:2755–2766.
- 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.
- HAMMOND K, HOSKIN S, BURKE J, WAGHORN G, KOOLAARD J, MUETZEL S. 2011. Effects of feeding fresh white clover (*Trifolium repens*) or perennial

ryegrass (*Lolium perenne*) on enteric methane emissions from sheep. *Animal Feed Science and Technology*.

HEGARTY RS, 2007. Variante in protozoo populations in feedlot cattle and grazing sheep. GGAAC. New Zealand.

HRISTOV A. N, 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 AND TRICARICO J. M, 2013. Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options/ *J Anim Sci*, 91:5045-5069.

HRISTOV, A.N., OH, J., LEE, C., MEINEN, R., MONTES, F., OTT, T., FIRKINS, J., ROTZ, A., DELL, C., ADESOGAN, A., YANG, W., TRICARICO, J., KEBREAB, E., WAGHORN, G., DIJKSTRA, J. & OOSTING, S. 2013. Mitigación de las emisiones de gases de efecto invernadero en la producción ganadera – Una revisión de las opciones técnicas para la reducción de las emisiones de gases diferentes al CO. Editado por Pierre J. Gerber, Benjamin Henderson y Harinder P.S. Makkar. *Producción y Sanidad Animal* FAO Documento No. 177. FAO, Roma, Italia.

2

IDEAM, 2009. Inventario nacional de fuentes y sumideros de gases de efecto invernadero 2000 – 2004. Bogotá D.C.

IPCC, 2007: Cambio climático 2007: Informe de síntesis. Contribución de los Grupos de trabajo I, II y III al Cuarto Informe de evaluación del Grupo Intergubernamental

de Expertos sobre el Cambio Climático [Equipo de redacción principal: Pachauri, R.K. y Reisinger, A. (directores de la publicación)]. IPCC, Ginebra, Suiza, 104 págs.

IPCC, GRUPO INTERGUBERNAMENTAL DE EXPERTOS SOBRE EL CAMBIO CLIMATICO, 2013. Resumen para responsables de políticas, Contribución del Grupo de trabajo I al Quinto Informe de Evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático.

IPCC, 2014: Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, pp 151.

JOHNSON KA, HUHLER M, WESTBERG H, BRIAN L, ZIMMERMAN P, 1994. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a SF₆ tracer technique. Environ Sci Technol;28:359–362.

JOHNSON KA, JOHNSON DE., 1995. Methane emissions from cattle. J Animal Science; 73: 2483-2492.

JOHNSON, K., WESTBERG, H., MICHAL, J., COSSALMAN, M. 2007. The SF₆ tracer technique: methane measurement from ruminants.

JOUANY, J.P, 1994. Manipulation of microbial activity in the rumen. Archives of Animal Nutrition 46, 133-153.

KAMRA DN, PATRA AK, CHATTERJEE PN, RAVINDRA KUMAR, NEETA AGARWAL, CHAUDHARY LC, 2008. Effect of plant extracts on methanogenesis and microbial profile of the rumen of buffalo: a brief review. Aust J Exp Agric;(48):175–178. fatty acid profiles in dairy cattle. Anim. Feed Sci. Tech, 166-167, 590-595.

KAMRA DN, PATRA AK, CHATTERJEE PN, RAVINDRA KUMAR, NEETA

KELLY JM, KERRIGAN B, MILLIGAN LP, MCBRIDGE WM, 1994. Development of a mobile, open–circuit indirect calorimetry system. Can J Anim Sci;74:65–71.

KINSMAN R, SAUER FD, JACKSON HA, WOLYNETZ, MS, 1995. Methane and carbon dioxide emissions from cows in full lactation monitored over a six-month period. J Dairy Sci,; 78(12): 2760-2766.

KINSMAN R, SAUER FD, JACKSON HA, WOLYNETZ, MS, 1995. Methane and carbon dioxide emissions from cows in full lactation monitored over a six-month period. J Dairy Sci; 78 (12): 2760-2766

KUMAR, R. AND M. SINGH, 1984. Tannins: Their adverse role in ruminant nutrition. Journal of Agricultural and Food Chemistry 32:447-453.

KURIHARA M, MAGNER T, MCCRABB H, MCCRABB G, 1999. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. British Journal of Nutrition, 81: 227-234.

LASSEY, K.R.; PINARES-PATIÑO, C.S.; MARTIN, R.J.; MOLANO, G.; MCMILLAN, A.M.S, 2011. Enteric methane emission rates determined by the SF tracer

technique: Temporal patterns and averaging periods. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 166–167, 183–191

LASSEY, K.R.; ULYATT, M.J.; MARTIN, R.J.; WALKER, C.F.; SHELTON, I.D, 1997. Methane emissions measured directly from grazing livestock in New Zealand. *Atmos, Environ.*, 31, 2905–2914.

LESTER, D.; GREENBERG, L.A, 1950. The toxicity of sulfur hexafluoride. *Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.*, 2, 348–349.

LLANTOY HURTADO, E. 2009. Evaluacion de la composicion floristica y la condicion de los pastizales del cicas la raya. Tesis de Ingeniero Zootecnista, cusco: Universidad nacional de san antonio abad del cusco, 80p.

MARIK THOMAS AND LEVIN INGEBORG, 1996. A new tracer experiment to estimate the methane emissions from a dairy cow shed using sulfur hexafluoride (SF₆).

MARIN GOMEZ ALEJANDRA, 2013. Estimación del inventario de emisiones de metano entérico de ganado lechero en el departamento de Antioquia, Colombia-UNC.

MCALLISTER, T.A., OKINE., E.K., MATHISON, G.W. AND CHENG, K.J. 1996. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science* 76: 231-243.

MCCAUGHEY, W.P.; WITTENBERG, K.; CORRIGAN, D, 1997. Methane production by steers on pasture. *Can. J. Anim. Sci*, 77, 519–524.

- MCCAUGHEY W, WITTENBERG K, CORRIGAN D, 1999. Impact of pasture type on methane production by lactating beef cows.
- MCGINN, S.M.; CHUNG, Y.H.; BEAUCHEMIN, K.A.; IWAASA, A.D.; GRAINGER, C, 2009. Use of corn distillers'dried grains to reduce enteric methane loss from beef cattle. *Can. J. Anim. Sci.*, 89, 409–413.
- MCLEAN JA, 1972. On the calculation of heat production from open circuit calorimetric measurements. *Br J Nutr*;27:597–600.
- MIERES, J.,OLIVERA, L, MARTINO,D., LA MANNA, A., FERNANDEZ, E., PALERMO, R., AND GREMMINGER, H, 2003. Methane emissions from holstein heifers grazing contrasting pastures in Uruguay.
- MOSS, A., GIVENS, D. I., & GARNSORTHY, P. 1995. The effect of supplementing grass silage whit barley on digestibility, in sacco degradability, rumen fermetation an mehane production in sheep at two levels of intake. *Animal Feed Science and Technology*.
- MOSS AR, JOUANY JP, NEWBOLD J, 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *INRA EDP Sciences. Ann Zootech*; 49: 231-253
- MORGAVI, D.P., FORANO, E., MARTIN, C. Y NEWBOLD,C.J. 2010. Microbial ecosystem and methananogenesis in ruminants. *Animal* 4:1024-1036.
- MURRAY, R. M., A. M. BRYANT, AND R. A. LENG, 1976. Rates of production of methane in the rumen and large intestine of sheep. *British Journal of Nutrition* 36:1-14

- PEDREIRA, ODO PRIMAVESI, APARECIDA LIMA MAGDA, FRIGHETTO, DE OLIVEIRA GISELE, TERESINHA BERCHIELLI TELMA, 2002, Emisión ruminal de metano por el ganado lechero en el sudeste de Brasil.
- PINARES-PATIÑO CS, CLARK H, WAGHORN G, HUNT C, MARTIN R, LOVEJOY P, WEST J, 2008. Ruminant methane – Extension of the animal calorimetry facility at Agresearch grasslands. Agresearch Limited.
- PINARES-PATIÑO CS, HOLMES CW, LASSEY KR AND ULYATT MJ, 2008. Measurement of methane emission from sheep by the sulphur hexafluoride
- PINARES-PATIÑO CS, KOOLAARD J, CLARK H, ROCHETTE Y, JOUANY J-P, MARTIN C, 2007. Effect of SF₆ tracer permeation rate upon the calculated ruminal methane production rates using rumen head space gas composition. GGAAC. New Zeland.
- PINARES-PATIÑO, C., 2014. Buenas prácticas en la aplicación de la tecnica de trazador sf6 para la estimacion de las emisiones de metano enterico. CSIRO.
- PRIMAVESI, O., FRIGHETO, R., PEDREIRA, M., LIMA, M., BERCHIELLI, T., DEMARCHI, J., WESTBERG, H. 2004. Técnica do gás traçador SF6 para medição de campo do metano. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste.
- RELLING, A., & MATTIOLI, G. 2002-2003. Fisiologia Digestiva y Metabolica de los Rumiantes. Catedra de Fisilogia, Facultad de Ciencias Veterinarias, U.N.L.P.
- STEINFELD, H., GERBER, P., WASSENAAR, T., CASTEL, V., ROSALES, M. Y DE HAAN, C. 2009. La larga sombra del ganado – problemas ambientales y

opciones. Roma, Italia, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

TONINI M, GRIFFITH D, BRYANT G, PHILLIPS F, ECKARD R, GRAINGER C, MCGINN S, 2007. An open air tracer method for measuring CH₄ emissions from cattle. GGAAC. New Zealand.

VAN SOEST PJ, 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Second edition. Cornell University Press; 476 p.

VLAMING J. 2008. Quantifying variation in estimated methane emission from ruminants using the SF₆ tracer technique. Thesis Doctoral. Palmerston North, New Zealand, Massey University.

WAGHORN G, WOODWARD S. 2006. Ruminant contributions to methane and global warming – New Zealand perspective. In: Bhatti J, Lal R, Apps M, Price M. (Eds.). Climate Change and Managed Ecosystems. CRC Taylor and Francis, Boca Raton, FL, USA.

WAGHORN G, MOLANO G, CAVANAGH A, 2003. An Estimate of Whole Herd Methane Production from Cows at the Lincoln University Dairy Farm in October 2003. A report prepared for Landcare Research, New Zealand.

WAINMAN, F.W.; BLAXTER, K.L, 1958. Closed-Circuit Respiration Apparatus for the Cow and Steer. In Proceedings of the 1st Symposium in Energy Metabolism, Principles, Methods and General Aspects, Copenhagen, Denmark,; pp. 80–84.

- WEIMER PJ, 1998. Manipulating ruminal fermentation: a microbial ecological perspective. *J Anim Sci*,; 76: 3114 – 3122.
- WESTBERG H, LAMB B, JOHNSON K, HUYLER M, 2001. Inventory of methane emissions from U.S. cattle. *Journal of Geophysical Research*. 106: 12633-12642.
- WIMS, C.M, DEIGHTON, M.H, LEWIS, E, O'LOUGHLIN, B, DELABY, L, BOLAND, T.M & O'DONOVAN, M, 2010. Effect of pregrazing herbage mass on methane production, dry matter intake, and milk production of grazing dairy cows during the mid-season period. *J. Dairy Sci*, 4976-4985.
- WOLIN MJ, 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *J Dairy Sci*;(43):1452–1459
- WOODWARD, S.L.; WAGHORN, G.C.; ULYATT, M.J.; LASSEY, K.R., 2001. Early indications that feeding Lotus will reduce methane emissions from ruminants. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 61: 23-26.
- ZIMMERMAN, P.R, 1993. *System for Measuring Metabolic Gas Emissions from Animals*. US.

ANEXOS

Anexo I. Calibración de tubos de permeación en gramos (g)

Fecha \ Tubos	1B40	A1	G17	G18	G19	G27	G3
Inicio	56.127	55,9034	55,7811	55.8289	55,7714	55.8454	55,7658
07/02/2014	58.1922	58,0564	57.8616	57,9533	57,8667	57,772	57,8583
10/02/2014	58,1846	58,0494	57,8549	57,947	57,86	57,7653	57,8505
14/02/2014	58,173	58,0388	57,846	57,9386	57,8512	57,7564	57,8397
18/02/2014	58,1618	58,0285	57,8363	57,9298	57,8419	57,7475	57,8288
28/02/2014	58,154	58,018	57,825	57,92	57,831	57,737	57,815
07/03/2014	58,136	58,006	57,816	57,912	57,823	57,728	57,804
14/03/2014	58,118	57,991	57,8	58,897	57,807	57,712	57,785
21/03/2014	58,101	57,976	57,786	57,884	57,792	57,698	57,769
31/03/2014	58,69	57,944	57,758	57,856	57,764	57,671	57,736
04/04/2014	58,061	57,937	57,75	57,849	57,757	57,663	57,727
11/04/2014	58,041	57,919	57,732	57,832	57,739	57,646	57,707
21/04/2014	58,021	57,9	57,716	57,818	57,723	57,631	57,681
25/04/2014	58,009	57,892	57,706	57,809	57,714	57,621	57,676
02/05/2014	57,994	57,877	57,693	57,796	57,7	57,607	57,601
09/05/2014	57,976	57,861	57,677	57,782	57,685	57,592	57,642
23/05/2014	57,941	57,829	57,646	57,755	57,655	57,563	57,607
31/05/2014	57,918	57,808	57,627	57,737	57,637	57,545	57,585
07/06/2014	57,901	57,794	57,614	57,724	57,624	57,532	57,571
01/07/2014	57,839	57,738	57,559	57,674	57,569	57,48	57,509
09/07/2014	57,819	57,72	57,544	57,659	57,554	57,461	57,487
Tasa perm, mg/day	2,4492	2,1998	2,0763	2,6874	2,0399	2,0142	2,49
R cuadrado	0,3054	0,9971	0,997	0,1632	0,9968	0,9971	0,9788
Intercepto, g	58,2302	58,0603	57,8655	58,0541	57,8706	57,7756	57,8624

Anexo II. Evaluación de tanques

NUMERO DE TANQUE	PRUEBA DE TANQUES			OBSERVACIONES
	09/06/2015	10/06/2015	PERDIDA DE FLUJO	
1	616	594	3.6%	OK
2	608	594	2.3%	OK
3	617	598	3.1%	
4	603	0		OK
5	614	0		DESCARTADO
6	617	598	3.1%	OK
7	616	0		DESCARTADO
8	618	594	3.9%	OK
9	619	502	18.9%	OK
10	615	0		OK
11	615	0		OK
12	616	580	5.8%	OK
13	616	597	3.1%	OK
14	619	597	3.6%	OK
15	600	0		DESCARTADO

Anexo III. Evaluación de capilares

NUMERO DE TANQUE	PRUEBA DE TANQUES			PRUEBA DE CAPILARES								OBSERVACIONES			
	09/06/2015	10/06/2015	PERDIDA DE FLUJO	10/06/2015	11/06/2015	PERDIDA DE FLUJO	OBSERVACIONES	11/06/2015	12/06/2015	PERDIDA DE FLUJO	OBSERVACIONES		13/06/2015	13/06/2015	PERDIDA DE FLUJO
1	616	594	3.6%		497	19.3%	OK								OK
2	608	594	2.3%		495	18.6%	OK								OK
3	617	598	3.1%		392	36.5%	Falla capilar								
4	603	0		607	0			616	0			620	584	5.8%	OK
5	614	0		612	0			615	0			617	360	41.7%	DESCARTADO
6	617	598	3.1%		300	51.4%	Falla capilar	612	376	38.6%	OK				OK
7	616	0		608	0			607	0			600	0		DESCARTADO
8	618	594	3.9%		462	25.2%	OK								OK
9	619	502	18.9%		180	70.9%	Falla capilar y tanque	616	525	14.8%	OK				OK
10	615	0		615	0			616	599	2.8%	OK				OK
11	615	0		611	0			616	598	2.9%	OK				OK
12	616	580	5.8%		330	46.4%	Falla capilar y tanque	617	582	5.7%	OK				OK
13	616	597	3.1%		276	55.2%	Falla capilar	619	391	36.8%	OK				OK
14	619	597	3.6%		60	90.3%	Falla tanque	613	592	3.4%	OK				OK
15	600	0		606	0			604	359	40.6%		602	0		

Anexo IV. Registro de vacas en adiestramiento

PRIMER LOTE		SEGUNDO LOTE	
Número de arete	Fecha de nacimiento (mes/año)	Número de arete	Fecha de nacimiento (mes/año)
314	julio-09	206	mayo-05
324	febrero-10	237	mayo-06
326	febrero-10	247	septiembre-06
334	julio-10	268	enero-07
346	diciembre-10	277	septiembre-07
347	enero-11	280	septiembre-07
348	enero-11	272	mayo-07
352	julio-11	293	Sin registro
353	julio-11	281	septiembre-07
354	julio-11	279	septiembre-07
362	septiembre-11		
368	diciembre-11		
370	diciembre-11		

Anexo V. Modelo de cálculo de metano

Día	Estudio	Animal	Tanque	Factor de dilución	GC SF6, ppt	GC CH4, ppm	GC SF6, media, ppt	GC CH4, media, ppm	Muestra SF6, ppt	Muestra CH4, ppm
15/08/2015	SILAJE HENO	247B	13	1,4321	4,8068	21,9975	4,9434	22,0631	7,0794	31,5968
			13		5,0799	22,1287				
15/08/2015	SILAJE HENO	237	12	3,3741	5,7372	7,939	5,1435	8,1334	17,3548	27,4428
			12		4,5498	8,3277				
15/08/2015	SILAJE HENO	272	1N	2,2535	5,1486	13,0886	5,3575	13,2675	12,0730	29,8983
			1N		5,5663	13,4464				
15/08/2015	SILAJE HENO	277	11	2,4256	5,0547	8,6202	4,8653	9,2372	11,8014	22,4061
			11		4,6758	9,8542				
15/08/2015	SILAJE HENO	206	20	2,2310	5,1207	12,0123	4,9305	11,9995	11,0000	26,7709
			20		4,7403	11,9866				
16/08/2015	SILAJE HENO	247B	5A	1,9274	5,9015	31,4809	5,9015	31,4809	11,3745	60,6759
			5A		5,9015	31,4809				
16/08/2015	SILAJE HENO	237	11A	1,8023	9,29121	45,9076	9,2912	45,9076	16,7456	82,7398
			11A		9,29121	45,9076				
16/08/2015	SILAJE HENO	272	12P	1,4387	5,452	7,3635	5,4520	7,3635	7,8437	10,5937
			12P		5,452	7,3635				
16/08/2015	SILAJE HENO	277	1P	2,9481	4,8545	6,915	4,8545	6,9150	14,3116	20,3861
			1P		4,8545	6,915				
16/08/2015	SILAJE HENO	206	10	1,3992	4,8157	25,2421	4,8157	25,2421	6,7382	35,3190
			10		4,8157	25,2421				
17/08/2015	SILAJE HENO	247B	1N	1,6853	5,1689	23,8949	5,2207	27,1655	8,7986	45,7830
			1N		5,2724	30,436				

Anexo VI. Análisis de varianza y prueba de Duncan de la producción de metano en gramos por día (CH₄, g/día)

Análisis de la varianza

Variable	N	CV
CH ₄ , g/d	45	60.63

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	329989.86	1	329989.86	3.78	0.0584
Error	3751425.31	43	87242.45		
Total	4081415.17	44			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 87242.4491 gl: 43

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
CONCENTRADO	407.07	24	60.29 A
SILAJE HENO	578.71	21	64.45 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo VII. Análisis de varianza y prueba de Duncan de la producción de metano en gramos por día (CH₄, g/día) con datos transformados

Análisis de la varianza

Variable	N	CV
CH ₄ ,g/d	45	32.76

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	147.60	1	147.60	3.13	0.0838
Error	2025.51	43	47.10		
Total	2173.11	44			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 47.1050 gl: 43

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
CONCENTRADO	19.26	24	1.40 A
SILAJE HENO	22.89	21	1.50 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo VIII. Análisis de varianza y prueba de Duncan de la producción de metano en litros por día (CH₄, l/día)

Análisis de la varianza

Variable	N	CV
CH ₄ , l/d	45	60.63

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	767439.14	1	767439.14	3.78	0.0584
Error	8724382.84	43	202892.62		
Total	9491821.98	44			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 202892.6242 gl: 43

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
CONCENTRADO	620.77	24	91.94 A
SILAJE HENO	882.54	21	98.29 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo IX. Análisis de varianza y prueba de Duncan de la producción de metano en litros por día (CH₄, l/día) con datos transformados

Análisis de la varianza

Variable	N	CV
CH ₄ l/d	45	32.76

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	225.19	1	225.19	3.13	0.0837
Error	3089.24	43	71.84		
Total	3314.43	44			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 71.8429 gl: 43

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
CONCENTRADO	23.78	24	1.73 A
SILAJE HENO	28.26	21	1.85 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo X. Análisis de varianza y prueba de Duncan de la producción de metano en gramos por kilogramo de peso vivo (CH₄, g/kg PV/día)

Análisis de la varianza

Variable	N	CV
CH ₄ , g/kg PV	45	64.99

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	1.60	1	1.60	3.57	0.0655
Error	19.29	43	0.45		
Total	20.89	44			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.4486 gl: 43

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
CONCENTRADO	0.85	24	0.14 A
SILAJE HENO	1.23	21	0.15 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo XI. Análisis de varianza y prueba de Duncan de la producción de metano en gramos por kilogramo de peso vivo (CH₄, g/kg PV/día) con datos transformados

Análisis de la varianza

Variable	N	CV
CH ₄ , g/KgPV/d	45	34.67

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	0.28	1	0.28	2.56	0.1169
Error	4.75	43	0.11		
Total	5.03	44			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 0.1105 gl: 43

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
CONCENTRADO	0.88	24	0.07 A
SILAJE HENO	1.04	21	0.07 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo XII. Análisis de varianza y prueba de Duncan de la producción de metano producido en gramos por kilogramo de materia seca consumida (CH₄, g/kg MS)

Análisis de la varianza

Variable	N	CV
CH ₄ , g/kg MS	45	64.985

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1780.152	1	1780.152	3.572	0.0655
TRATAMIENTO	1780.152	1	1780.152	3.572	0.0655
Error	21431.336	43	498.403		
Total	23211.488	44			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 498.4032 gl: 43

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
CONCENTRADO	28.470	24	4.557 A
SILAJE HENO	41.078	21	4.872 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo XIII. Análisis de varianza y prueba de Duncan de la producción de metano producido en gramos por kilogramo de materia seca consumida (CH₄, g/kg MS) con datos transformados

Análisis de la varianza

Variable	N	CV
CH ₄ , g/kg MS	45	34.67

Cuadro de Análisis de la Varianza

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	9.42	1	9.42	2.56	0.1169
Error	158.31	43	3.68		
Total	167.73	44			

Test:Duncan Alfa=0.05

Error: 3.6816 gl: 43

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
CONCENTRADO	5.11	24	0.39 A
SILAJE HENO	6.02	21	0.42 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo XIV. Análisis nutricional de los alimentos consumido por las vacas.

ESPECIE	EB, kcal/g	%MO	%MS	%PC
Mulembergia fastigiata	4,01	-	89,79	-
Festuca ortophylla	4,07	96,22	89,64	3,25
Calamagrostis amoena	3,84	92,74	89,61	4,69
Stipa brachiphylla	4,06	96,36	89,23	3,81
Stipa ichu (vieja)	4,07	95,59	89,48	2,81
Festuca dolichophylla	3,81	96,44	89,17	4,31
Scirpus rigidus	4,08	96,71	89,91	10,19
Stipa ichu (joven)	4,04	97,21	89,77	2,44
Lolium perenne	4,01	95,12	89,81	11,06
Festuca rígida	4,01	94,94	89,84	5,38
Festuca dolichophylla (inflorescencia)	4,27	-	-	-
Festuca rígida (inflorescencia)	4,15	94,63	-	9,38
Calamagrostis amoena (inflorescencia)	4,09	94,43	-	10,38
Promedio pastos	4,04	95,49	89,60	6,15
<i>Silaje de avena</i>	4,05	95,35	92,84	5,25
Promedio pastos - silaje	4,04	95,42	91,22	5,70

EB=energía bruta; %MO= porcentaje de materia orgánica; %MS= porcentaje de materia seca; %PC= porcentaje de proteína cruda.