

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**



**“EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO DE VACAS EN LACTACIÓN
CON PASTOS CULTIVADOS EN ZONA ALTOANDINA - ESTACIÓN
LLUVIOSA Y SECA”**

Presentada por:

VÍCTOR ILICH ALVARADO BOLOVICH

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE EN NUTRICIÓN**

LIMA– PERÚ

2018

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**

**“EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO DE VACAS EN LACTACIÓN
CON PASTOS CULTIVADOS EN ZONA ALTOANDINA -
ESTACIÓN LLUVIOSA Y SECA”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE**

Presentada por:

VÍCTOR ILICH ALVARADO BOLOVICH

**Sustentada y aprobada ante el siguiente
jurado:**

Ph.D. Víctor Guevara Carrasco
PRESIDENTE

Ph.D. Carlos Gómez Bravo
PATROCINADOR

Ph.D. Javier Ñaupari Vásquez
MIEMBRO

Mg.Sc. Víctor Hidalgo Lozano
MIEMBRO

DEDICATORIA

A mis padres, por su apoyo incondicional.

A Melissa Reyes, por su constante exigencia.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor de tesis, Ph.D. Carlos Gómez Bravo por su estricta guía que conduce a la excelencia.

Al programa de becas CIENCIACTIVA CONCYTEC, Convenio de Gestión N° 183-2015 FONDECYT por subvención de estudios de Maestría en Nutrición de la UNALM.

Al Programa Cooperativo para el Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria FTG/RF-14653-RG “Mejoramiento de los sistemas de producción animal con énfasis en la ganadería de leche en la Región Andina dentro del contexto de cambio climático”, BID-FONTAGRO, por el financiamiento de la investigación.

Al Programa de Estancias en Cooperación con DAAD – Alemania, contrato 014-2017-FONDECYT “Mejoramiento de los sistemas de producción en ganadería alto andina y sistemas silvopastoriles de selva alta en el contexto del cambio climático como estrategia de adaptación y mitigación de emisión de metano y óxido nitroso”, por financiar la visita al Instituto de Ciencias Agrícolas Tropicales de la Universidad de Hohenheim.

Al Ph.D. Uta Dickhöfer, por su valioso aporte durante mi estadía en la Universidad de Hohenheim en Stuttgart – Alemania.

Al Ph.D. Camila Muñoz, por su valiosa capacitación en el INIA Remehue durante mi estadía en Osorno – Chile.

Al Ing. Julian Coaquira Incacari y a los trabajadores del IRD-Sierra en Jauja, quienes me brindaron las facilidades para la realización del estudio de campo.

A mi colega Jorge Luis Medrano, por su apoyo e ingenio durante la etapa experimental.

Al Ing. Mg. Sc. José Haro por el apoyo logístico durante la investigación.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1.	El Calentamiento global y las emisiones de GEI.....	2
2.2.	Emisiones de gases de efecto invernadero en el Perú.....	3
2.3.	Emisiones de CH ₄ por rumiantes	5
2.4.	Efecto de la cantidad, calidad y digestibilidad del alimento sobre la emisión de CH ₄ entérico.....	6
2.5.	Metodologías de medición de metano en rumiantes.....	8
2.5.1.	Técnica del gas trazador SF ₆	9
2.5.2.	Ecuaciones de predicción	12
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1.	Lugar y duración.....	15
3.2.	Animales experimentales	15
3.3.	Tratamientos	15
3.4.	Aplicación de la técnica SF ₆ como trazador de CH ₄ entérico.....	16
3.4.1.	Armado y puesta a punto de cánisters tipo yugo.....	16
3.4.2.	Preparación y puesta a punto de las líneas de flujo.....	17
3.4.3.	Calibración y dosificación de las cápsulas de permeación.....	18
3.4.4.	Adaptación de los animales experimentales.....	18
3.4.5.	Colección de CH ₄ y SF ₆ en campo	19
3.4.6.	Sub-muestreo a viales	19
3.4.7.	Lecturas por cromatografía gaseosa	20
3.5.	Mediciones en el alimento	22
3.5.1.	Disponibilidad de forraje	22
3.5.2.	Calidad de la Dieta	22
3.6.	Mediciones en los animales experimentales.....	26
3.6.1.	Consumo de Alimento.....	26
3.6.2.	Producción y composición de la leche	28
3.6.3.	Emisiones de metano entérico	28
3.7.	Análisis químicos.....	29
3.8.	Análisis estadístico	30
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31

4.1.	Mediciones en el Alimento	31
4.1.1.	Disponibilidad de forraje	31
4.1.2.	Calidad de la Dieta	32
4.2.	Mediciones en los animales experimentales	35
4.2.1.	Consumo de Alimento	35
4.2.2.	Producción y composición de la leche	38
4.2.3.	Emisiones de metano entérico	39
VI.	CONCLUSIONES.....	44
VII.	RECOMENDACIONES	45
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
IX.	ANEXOS	62

ÍNDICE DE TABLAS

Cuadro 1: Emisiones de gases de efecto invernadero por sectores del Perú (2012).	4
Cuadro 2: Disponibilidad de la pastura en época lluviosa y seca.....	31
Cuadro 3: Composición nutricional del alimento (Avena, alfalfa, concentrado y dieta total) en época lluviosa y seca (base seca).	32
Cuadro 4: Digestibilidad de la dieta total determinada a través del contenido de Nitrógeno fecal (DMO) en época lluviosa y seca.	35
Cuadro 5: Consumo de avena, alfalfa, concentrado y dieta total - época lluviosa y seca. ..	36
Cuadro 6: Producción y composición de leche en época lluviosa y seca.....	38
Cuadro 7: Emisión de metano entérico promedio de vacas en lactación en época lluviosa y seca en pastos cultivados (alfalfa y avena).	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Comunicaciones a la CMNUCC.	3
Figura 2: Diagrama de flujo de la técnica del gas trazador SF ₆	21
Figura 3: Preparación del medio de inoculación.	24
Figura 4: Filtrado e inoculación del licor ruminal.	24
Figura 5: Dosificación de licor ruminal en jeringas para incubación.	25
Figura 6: Incubación de muestras a 39°C por 24 horas.	26

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo I. Características de los animales experimentales durante la época lluviosa.....	62
Anexo II. Características de los animales experimentales durante la época seca.	62
Anexo III. Características de las cápsulas de permeación seleccionadas.....	63
Anexo IV. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 27.....	63
Anexo V. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 28.....	64
Anexo VI. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 29.....	64
Anexo VII. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 30.	65
Anexo VIII. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 31.....	65
Anexo IX. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 32.....	66
Anexo X. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 33.....	66
Anexo XI. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 34.....	67
Anexo XII. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 35.	67
Anexo XIII. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 36.....	68
Anexo XIV. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 37.....	68
Anexo XV. Animales experimentales pastoreando avena en época lluviosa.....	69
Anexo XVI. Animales experimentales pastoreando alfalfa en época lluviosa.....	69
Anexo XVII. Animales experimentales pastoreando avena en época seca.....	69
Anexo XVIII. Animales experimentales pastoreando alfalfa en época seca.....	70
Anexo XIX. Capacitación de medición de metano entérico en el INIA – Remehue.	70
Anexo XX. Medio para Hohenheim Gas Test - Universidad de Hohenheim.	71
Anexo XXI. Concentración de dióxido de titanio (g/g MO) en heces.	72
Anexo XXII. Base de datos de disponibilidad de la pastura.	73
Anexo XXIII. Base de datos de digestibilidad de la dieta.....	73
Anexo XXIV. Base de datos de consumo de materia seca.	74
Anexo XXV. Base de datos de consumo de ceniza.	74
Anexo XXVI. Base de datos de consumo de proteína.	75
Anexo XXVII. Base de datos de consumo de FDN.....	75
Anexo XXVIII. Base de datos de consumo de EB.....	76
Anexo XXIX. Base de datos de consumo de EM.	76
Anexo XXX. Base de datos de producción de leche y leche corregida a energía.....	77
Anexo XXXI. Base de datos de calidad de leche.....	77
Anexo XXXII. Base de datos I de emisión de metano entérico.....	78
Anexo XXXIII. Base de datos II de emisión de metano entérico.	79

RESUMEN

Las emisiones de metano entérico de once vacas lactantes Brown Swiss pastoreando avena y alfalfa, fueron medidas en dos estaciones de un año (lluviosa/marzo y seca/agosto). Las emisiones fueron medidas para cada animal por siete días consecutivos en cada estación utilizando la técnica del gas trazador hexafluoruro de azufre y comparadas utilizando la prueba T-pareada. La digestibilidad de la dieta varió significativamente ($P < 0.001$) entre estaciones (680 ± 18.2 vs. 640 ± 16.1 g/kg MS), observándose una caída del nivel de proteína cruda (PC) y energía metabolizable (EM) e incrementándose la fibra detergente neutro (FDN) en la estación seca. Las emisiones de metano entérico (g/d) fueron significativamente diferentes ($P < 0.001$) entre estaciones, siendo mayor durante la lactación temprana en la estación lluviosa (322 ± 70.6) y declinando durante la lactación tardía en la estación seca (274 ± 64.0). La emisión de metano entérico expresado por unidad de alimento consumido (g/kg de CMS) fue significativamente menor ($P < 0.001$) en la estación lluviosa (24.3 ± 5.3) que en la estación seca (28.2 ± 6.6). Similar respuesta ($P < 0.01$) fue observada en la emisión de metano entérico expresado por unidad de leche corregida a energía (g/kg de LCE), estación lluviosa (24.6 ± 5.4) y estación seca (27.5 ± 6.4). Se concluyó que los cambios estacionales en la disponibilidad y composición química de la pastura, así como el estado de lactación dan lugar a cambios en la emisión de metano entérico.

Palabras clave: metano entérico, pastoreo, vacas lecheras.

ABSTRACT

Enteric Methane emissions from eleven Brown Swiss lactating cows grazing oats and alfalfa were measured in two seasons of a year (rainy/march and dry/august). Emissions were measured from each animal for seven consecutive days in each season using the sulfur hexafluoride tracer technique and compared using paired T test. The digestibility of the diet varied significantly ($P<0.001$) between seasons (680 ± 18.2 vs. 640 ± 16.1 g/kg DM), with a drop in the level of crude protein (CP) and metabolizable energy (ME) and increasing neutral detergent fiber (NDF) in dry season. Enteric methane emissions (g/d) were significantly different ($P<0.001$) between seasons, being higher during early lactation in rainy season (322 ± 70.6) and declining during late lactation in dry season (274 ± 64.0). Enteric methane emission expressed per unit of food consumed (g/kg DMI) was significantly lower ($P<0.001$) in rainy season (24.3 ± 5.3) than in dry season (28.2 ± 6.6). Similar response ($P<0.01$) was observed in enteric methane emission expressed per unit of energy corrected milk (g/kg ECM), rainy season (24.6 ± 5.4) and dry season (27.5 ± 6.4). It was concluded that seasonal changes in availability and chemical composition of the pasture, as well as the state of lactation, lead to changes in enteric methane emissions.

Keywords: enteric methane, grazing, dairy cows.

I. INTRODUCCIÓN

El incremento de gases de efecto invernadero (GEI) es responsable del llamado “Calentamiento Global” ya que estos se encuentran en la atmósfera atrapando la radiación, generando un aumento de la temperatura atmosférica. Los principales GEI que se emiten a causa de las actividades humanas son el dióxido de carbono (CO_2), el óxido nitroso (N_2O) y el metano (CH_4), siendo el CH_4 uno de los productos finales de la fermentación microbiana de los rumiantes, formado por Arqueobacterias que poseen la capacidad de reducir el CO_2 usando H_2 . El Perú es parte de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC) desde 1992, y en 1993 ratificó dicho tratado internacional, confirmando oficialmente nuestro compromiso de contribuir al objetivo de dicha Convención de “estabilizar las concentraciones de gases de efecto invernadero en la atmósfera a un nivel que prevenga interferencias antropogénicas peligrosas” (ONU 1992). Nuestro país reiteró su compromiso al incorporarse al Protocolo de Kioto en el 2002 y firmando en el 2016 el Acuerdo de París, con el consenso de reducir en 30% sus emisiones de gases de efecto invernadero hasta el año 2030. Sin embargo, no se cuenta aún con suficiente información de campo para nuestra realidad ganadera que permita cumplir con dichos objetivos, habiendo incertidumbre en los actuales inventarios nacionales de GEI. En el Perú solo se ha realizado una medición de emisiones de CH_4 entérico con vacas lecheras en un sistema de pastos naturales durante la época seca, por lo cual no se conocen las emisiones de vacas lecheras en pastos cultivados para la estación lluviosa y seca, por lo tanto el objetivo presente estudio fue determinar las emisiones de CH_4 entérico en vacas lactantes Brown Swiss al pastoreo de avena y alfalfa en dos temporadas del año (lluviosa y seca), buscando reflejar los cambios estacionales en la disponibilidad y composición química de la pastura sobre las emisiones de CH_4 entérico.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. El Calentamiento global y las emisiones de GEI

Tomando en cuenta la diferencia entre la radiación solar absorbida y la emitida por la Tierra, así como su distancia con respecto al sol, la temperatura terrestre debería ser -18°C , sin embargo, la temperatura promedio global es $+15^{\circ}\text{C}$ (Martínez et al. 2004; MINAM 2009), es decir, hay una diferencia de 33°C (Le Treut et al. 2007). Este diferencial de temperatura se genera por un proceso natural conocido como “Efecto invernadero” y se da en cualquier planeta con atmósfera (Martínez et al. 2004). La atmósfera terrestre consiste en una mezcla de gases compuesta en su mayoría por nitrógeno (78.08%) y oxígeno (20.95%), seguido de argón (9340 ppm) y dióxido de carbono (400 ppm), el restante lo forman el neón, helio, metano, kriptón e hidrógeno (NASA 2016). Sin embargo, las actividades antropogénicas que generan principalmente la emisión de CO_2 , CH_4 , N_2O y los halocarbonos, incrementan sus concentraciones en la atmósfera (IPCC 2007), generando así un efecto invernadero incrementado al dejar pasar la luz solar pero deteniendo su salida (IPCC 2007). El “Calentamiento Global” es el resultado de este efecto invernadero incrementado (MINAM 2009), y bajo estimaciones realizadas por modelación se plantea que antes de fin de siglo el aumento de temperatura del planeta será de 2 a 6°C (Forster et al. 2007).

El Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC, por sus siglas en inglés) fue establecido por la Organización Meteorológica Mundial (OMM) y el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) en 1988 y es el principal organismo internacional encargado de la evaluación del Cambio Climático (FAO 2015). El IPCC viene preparando metodologías y directrices orientando a las Partes de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC), en la elaboración de los inventarios nacionales de emisiones de gases de efecto invernadero (GEI). Las Directrices del IPCC del 2006 reportan tres niveles, donde los niveles superiores mejoran la precisión del inventario y reducen la incertidumbre, pero aumentan

la complejidad y recursos requeridos (FAO 2015). El Nivel 1 permite el uso de las estadísticas internacionales y factores de emisión tomados de estudios previos, facilitando las estimaciones y preparación de los inventarios nacionales de emisiones de GEI en países en vías de desarrollo (FAO 2015). En el Nivel 2 se determina el consumo de energía neta para mantenimiento, actividad, crecimiento, gestación y lactación dadas las condiciones de la zona y toma un rendimiento de metano (Y_m) por defecto según el sistema productivo; y en el Nivel 3 se usan mediciones de emisiones directas y se incluyen modelos y sistemas de medición de inventarios adaptados a las circunstancias nacionales y repetidos en el tiempo a intervalos regulares, se detalla la población del ganado según el tipo de animal, la edad, el peso corporal, etc., lo que permite estimaciones de mayor certeza que los niveles inferiores (FAO 2015).

2.2. Emisiones de gases de efecto invernadero en el Perú

Nuestro País viene realizando su Tercera Comunicación Nacional a la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre Cambio Climático siguiendo las Directrices del IPCC con intentos de lograr pasar al nivel 2 usando valores de consumo de energía bruta por defecto. Para comparar los gases inventariados como lo establece el IPCC, se ha recurrido a una equivalencia llamada Potencial de Calentamiento Global (PCG), que transforma los gases a unidades equivalentes de CO_2 (CO_2 -eq). El PCG del CH_4 utilizado fue de 21 (IPCC 1995) para las tres comunicaciones, con la finalidad de que sean comparables.

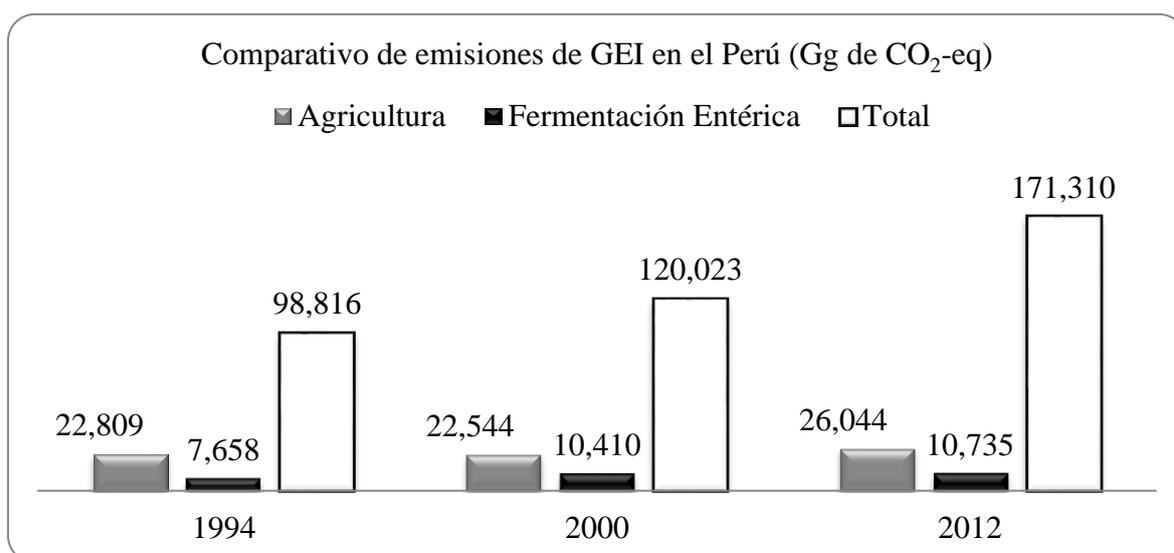


Figura 1: Comunicaciones a la CMNUCC.

Fuente: CONAM 2001, MINAM 2010, MINAM 2016

De acuerdo a la Primera Comunicación Nacional en base al año 1994, se reportó un total de emisiones de 98,816.30 Gigagramos (Gg) de CO₂-equivalente (CO₂-eq), de las cuales el sector Agricultura representaba el 23.08% con 22,809.06 Gg CO₂-eq. Dentro del sector agricultura tenemos a la fermentación entérica con 7,658.07 Gg que representaba el 33.57% de dicho sector (CONAM 2001). En la Segunda Comunicación Nacional en base al año 2000, se reportó un total de emisiones de 120,023 Gg CO₂-eq, donde 22,544 Gg correspondieron al sector Agricultura (18.78%), con 10,410 Gg para la fermentación entérica que representaba el 46.18% del sector agricultura (MINAM 2010). En la Tercera Comunicación Nacional en base al año 2012 se reporta un total de 171,310 Gg CO₂-eq, donde el sector Agricultura representa el 15.20% con 26,044 Gg, dentro del cual la fermentación entérica aporta 10,735 Gg que representan el 41.22% de dicho sector y el 6.27% de las emisiones totales (MINAM 2016). Como se puede observar, las emisiones en el Perú se han incrementado un 73.36% para el 2012 con respecto a 1994, así mismo, la fermentación entérica ha tenido un incremento del 40.18% para el mismo período de tiempo.

Cuadro 1: Emisiones de gases de efecto invernadero por sectores del Perú (2012).

Sectores	GEI 2012 (GgCO ₂ -eq)	Participación (%)
Energía	44,638	26.1
Procesos Industriales	6,064	3.5
Agricultura		
Fermentación entérica	10,735	6.3
Manejo de estiércol	1,319	0.8
Cultivos de arroz	1,171	0.7
Suelos Agrícolas	12,196	7.1
Quema de sabanas	366	0.2
Quema de residuos agrícolas	257	0.2
Uso de suelo, cambio de uso de suelo y silvicultura	86,742	50.6
Desechos	7,822	4.5
Total	171,310	100

Fuente: MINAM 2016

Cabe resaltar que el total de emisiones reportado para el año 2012 tiene una participación a nivel mundial de apenas el 0.3%, siendo el principal emisor en el Perú, el sector uso del suelo, cambio de uso del suelo y silvicultura con aproximadamente el 50% de participación nacional (Cuadro 1).

2.3. Emisiones de CH₄ por rumiantes

A nivel mundial, el ganado es la fuente antropogénica más importante de emisiones de metano (FAO 2009) y pese a que el CH₄ está en menor concentración que el CO₂ en la atmósfera, es responsable de aproximadamente el 20% del efecto invernadero (IPCC 1990; IPCC 1992). Se estima que la ganadería genera 7,1 gigatoneladas de CO₂-eq por año, lo que representa el 14,5% de todas las emisiones antropogénicas, donde el ganado vacuno es el principal generador de emisiones del sector ganadería, con alrededor de 4,6 gigatoneladas de CO₂-eq, que representa el 65% de las emisiones provenientes de las actividades pecuarias (FAO 2013a).

La fermentación microbiana anaeróbica que ocurre a lo largo del tracto digestivo, principalmente en el rumen, convierte los alimentos en productos que pueden ser digeridos y utilizados por el animal (FAO 2009; FAO 2013b) como los ácidos grasos volátiles (AGV) (acetato, propionato y butirato) (McDonald et al. 1995). A este proceso se le conoce como fermentación entérica y produce metano como subproducto (IPCC 2006), 87% en el rumen y el 13% restante en el tracto digestivo inferior (Murray et al. 1976). Este CH₄ es emitido a la atmósfera principalmente mediante eructos (82.7%), exhalación (15.9%) y en menor medida a través de flatulencias (1.4%) (Murray et al. 1976).

Dado que la productividad del ganado rumiante depende de la microbiota del rumen y que el entendimiento de esta es importante para reducir las emisiones de metano, es que se ha logrado identificar a la fecha el 75% de las bacterias y archaeas del rumen (Seshadri et al. 2018). La formación de metano se da por una serie de microorganismos metanogénicos (Arqueobacterias - Archaea) estrictamente anaerobios (FAO, 2013b), siendo los más destacados en el rumen el *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobacterium formicicum* y *Methanomicrobium mobile*, que reducen el dióxido de carbono usando el hidrógeno como fuente de energía (Attwood y McSweeney 2008; Clark et al. 2011; Janssen 2010; Moss et al. 2000; Vlaming 2008). Así mismo, los protozoarios (Williams y Coleman 1997; Hegarty 1999) y los hongos (Orpin y Joblin 1997) que se encuentran a nivel ruminal, están involucrados también en la producción de CH₄. Debido a la presencia de estos microorganismos, los rumiantes emiten significativamente mayores cantidades de CH₄ que los no rumiantes (Crutzen et al. 1986; Jensen 1996; Moss et al. 2000).

En la síntesis de acetato y butirato se generan moléculas de hidrógeno (Vlaming 2008; Moss et al. 2000) las cuales deben ser removidas para mantener la eficiencia energética en la fermentación (Beauchemin et al. 2008). En el rumen, la formación de metano es la principal forma de eliminación de hidrógeno generado durante la producción de Adenosin trifosfato (ATP) por los microorganismos anaerobios del rumen (Moss et al. 2000; Van Soest 1994). Por ello, si deseamos modificar la producción de CH₄ ruminal, se debe tener en cuenta una alternativa de remoción de hidrógeno, de manera que no se vea perjudicada la eficiencia del sistema digestivo (Clark et al. 2011), como por ejemplo, la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados y la formación del ácido propiónico (Van Soest, 1994), o el uso de nitratos y sulfatos como aceptores de hidrógeno (Van Zijderveld et al. 2010).

En el Perú solo existe una medición de las emisiones de CH₄ entérico, realizado en Cuzco a 4,200 m.s.n.m, utilizando vacas Brown Swiss cruzadas al pastoreo con un sistema de alimentación a base de pastizales (*Festuca dolichophylla* y *Muhlenbergia fastigiata*) con suplementación de ensilado de avena, ensilado más concentrado, y ensilado más taninos, reportando emisiones de 422, 368 y 331 gCH₄/vaca/d respectivamente (Moscoso et al. 2017).

2.4. Efecto de la cantidad, calidad y digestibilidad del alimento sobre la emisión de CH₄ entérico

La producción de metano depende principalmente de la cantidad del alimento ingerido (Buddle et al. 2011; Jonker et al. 2017; Lassey et al. 2011). Se sabe que cuando aumenta el nivel de alimentación, la producción de metano se incrementa, así, al aumentar la disponibilidad de biomasa del forraje, se incrementa el nivel de consumo y en consecuencia aumentan las emisiones totales de metano por animal (Pinares-Patiño et al. 2003b), sin embargo, disminuyen por unidad de materia seca consumida (Blaxter y Wainman 1961; Blaxter y Clapperton 1965; Johnson y Johnson 1995), esto debido a que una mayor ingesta acelera la tasa de paso del alimento, lo cual disminuye el tiempo de fermentación ruminal afectando la degradabilidad de la dieta y reduciendo el tiempo de exposición del material fibroso a los microorganismos metanogénicos (Hindrichsen et al. 2006; McAllister et al. 1996; Pinares-Patiño et al. 2003a).

La calidad de la dieta también tiene un efecto sobre las emisiones de metano entérico (Boadi et al. 2002; Boadi y Wittenberg 2002; IPCC 2007), donde la reducción de las emisiones esta correlacionada con una mejor calidad y digestibilidad de los nutrientes, dos atributos para los que el tipo de forraje y su madurez podrían ser indicadores (FAO 2013b). Así, una baja disponibilidad de la pastura que limita la oportunidad de seleccionar el forraje de mayor calidad (Ominski et al. 2004) aumenta las emisiones de metano por unidad de consumo (Pinares-Patiño *et al.*, 2003b).

Se ha encontrado que la calidad y digestibilidad del alimento afecta en mayor medida al methane yield (Y_m) (Harper et al. 1999; IPCC 2007), que viene a ser la pérdida energética por producción de CH_4 en relación a la energía bruta (EB) ingerida (Lassey 2007), el cual varía entre un 2 a 12% según el tipo de dieta (Johnson y Johnson 1995). El consumo de forrajes en estado vegetativo aumenta el contenido de carbohidratos solubles y reduce la lignificación de las paredes celulares de la planta aumentando de este modo su digestibilidad (Van Soest 1994) y disminuyendo la producción de CH_4 por unidad de materia seca digestible (Tyrrell et al. 1992; Boadi y Wittenberg 2002). Así, los forrajes en estado vegetativo de alta calidad y digestibilidad con mayores concentraciones de carbohidratos solubles favorecen las rutas de degradación de los carbohidratos hacia propionato disminuyendo la producción de metano (Murphy et al. 1982; Purcell et al. 2011; Van Soest 1994). El potencial metanogénico más elevado de los carbohidratos estructurales frente a los no estructurales está bien estudiado (Moe y Tyrrell 1979) y estos se incrementan a medida que aumenta la madurez de la planta, disminuyendo su digestibilidad (FAO 2013b). En estudios *in vitro* se ha encontrado que a una mayor madurez del forraje aumentan las emisiones de CH_4 por unidad de materia seca incubada (Navarro-Villa et al. 2011; Purcell et al. 2012). Esto se debe a que la lignina limita la digestibilidad de la pared celular del forraje, así cuando las plantas maduran, los ácidos fenólicos y la lignina se depositan y mediante puentes con ácido ferúlico se forman enlaces mixtos entre la lignina y los polisacáridos de la pared celular limitando la digestibilidad de los polisacáridos por el animal (Jung y Allen 1995).

Diferentes estudios han demostrado que las dietas basadas en granos reducen las emisiones de metano por unidad de materia seca consumida, en comparación con las dietas a base de pastos, debido fundamentalmente al aumento en la producción de propionato, que provee una ruta metabólica que consume H_2 y por tanto, reduce el sustrato disponible para la

metanogénesis (Murphy et al. 1982), a la disminución del pH ruminal con la consecuente inhibición del crecimiento de metanógenos en el rumen (Lana et al. 1998) y a la disminución del número de protozoarios debido al incremento de la tasa de pasaje, limitando la transferencia de H₂ desde éstos a los metanógenos (Williams y Coleman 1997).

Los forrajes tienen considerables variaciones en el contenido y digestibilidad de la fibra detergente neutro (FDN), y se sabe que la emisión de CH₄ proviene principalmente de la digestión de la fibra (Moe y Tyrrel 1979), así Dall-Orsoletta et al. (2016) encontraron diferencias en las emisiones de CH₄ con similares consumos de materia seca a causa principalmente del contenido de FDN. En las gramíneas, el contenido de pared celular es más alto y la FDN es generalmente más digestible que en las leguminosas (Jung y Allen 1995). El contenido más bajo de FDN y las mayores tasas de pasaje de las leguminosas conllevan a un descenso en la producción de CH₄ en comparación con las gramíneas (Dewhurst 2013; Kasuya y Takahashi 2010; McCaughey et al. 1999; Waghorn et al. 2006).

2.5. Metodologías de medición de metano en rumiantes

Para el desarrollo de inventarios precisos o para la implementación de estrategias de mitigación, es importante contar con una tecnología de medición confiable y precisa (Bhatta et al. 2007). Bhatta et al. (2007), presentan varias tecnologías como la calorimetría a través de cámaras respiratorias; técnicas meteorológicas como la del túnel de viento portátil, las técnicas de arriba abajo y las técnicas de capa límite; así también las técnicas *in vitro* como la técnica de simulación ruminal y la técnica de producción de gases *in vitro*; también presentan ecuaciones de predicción como una herramienta sencilla y práctica; y finalmente tenemos el uso de trazadores (isotópicos y no isotópicos) como el hexafluoruro de azufre (SF₆).

Para las mediciones de metano como tal, se ha utilizado técnicas tales como la cromatografía de gases; los analizadores de gases infrarrojos con detección fotoacústica; la espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FTIR); la espectroscopía de absorción láser con diodos sintonizables y, los semiconductores sensores de chip (Bhatta et al. 2007).

2.5.1. Técnica del gas trazador SF₆

La técnica que utiliza el gas trazador hexafluoruro de azufre, es del tipo trazadora no isotópica (Johnson et al. 1994), la cual fue recomendada por el Doctor Zimmerman del National Center for Atmospheric Research at Boulder, Colorado, en 1993 (Berndt et al. 2014; Hammond et al. 2016) y descrita por primera vez por Johnson et al. (1994). Esta técnica fue desarrollada por los Doctores Pat Zimmerman, Hal Westberg y Kris Johnson en Washington State University (WSU), Pullman, Washington, EE.UU (Berndt et al. 2014; Johnson et al. 1994; Lassey et al. 1997; Lassey et al. 2011; Ulyatt et al. 1999) y desde entonces ha sido ampliamente utilizada en Estados Unidos, Canadá, Nueva Zelanda, Australia, Irlanda, Francia, Brasil, India, China (Lassey 2007), esto gracias a su versatilidad para permitir realizar mediciones bajo condiciones de pastoreo (Johnson y Johnson 1995).

La técnica trazadora SF₆ consiste en la colecta de gases exhalados y eructados por el rumiante, así como aire ambiental (Johnson et al. 1994). Esto es posible debido a dos principios, el primero se debe a que el CH₄ es emitido del animal a la atmósfera principalmente mediante eructos (82.7%) y exhalación (15.9%), mientras que una mínima cantidad a través de las flatulencias (1.4%) (Murray et al. 1976). El segundo, se basa en el uso del gas trazador SF₆, que disminuye la importancia de la difusión molecular de los gases en la atmósfera (Johnson et al. 1994), así solo una fracción pero representativa de gas es tomada alrededor del hocico y ollares de cada animal (Lassey et al. 2011). El trazador se acumula en el rumen, y posteriormente es liberado junto con el CH₄, donde las tasas de dilución para el SF₆ y el CH₄ son idénticas, por lo tanto se asume que la emisión de SF₆ simula exactamente la emisión de CH₄ (Johnson et al. 1994). De este modo, conociendo la tasa de liberación del SF₆ en el lapso de recolección de la muestra (usualmente 24 horas), multiplicado por la razón de las concentraciones de CH₄ (ppm) y SF₆ (ppt) que se encuentran en la muestra colectada (determinadas por cromatografía de gases), se obtiene la emisión de CH₄ para el lapso de recolección en cada animal (Berndt et al. 2014; Ulyatt et al. 1999).

a. Cápsula de permeación

La cápsula de permeación consiste en un pequeño tubo de bronce que contiene el gas trazador SF₆, siendo cargada aproximadamente con 2.2 a 2.8 g de dicho gas (Lassey et al. 2001). Las cápsulas para vacunos tienen un cuerpo cilíndrico de aproximadamente 45 mm

longitud, con una rosca Swagelok® de 9.5 mm de abertura (Lassey et al. 2001), dicha cápsula es dosificada a nivel de rumen-retículo liberando el gas a una tasa constante y conocida a través de una membrana permeable (Teflón®) que a su vez está recubierta por una frita o micro-rejilla de acero inoxidable. La tasa de liberación está definida por el espesor del teflón y la temperatura de almacenamiento (Lassey et al. 2011), siendo el rango de la tasa de permeación de 3 a 7 mg SF₆ por día (Berndt et al. 2014).

Cada cápsula de permeación presenta una tasa de liberación particular, la cual debe ser determinada individualmente previo a su dosificación (Berndt et al. 2014). Para ello, las cápsulas de permeación son mantenidas en una estufa a 39°C simulando la temperatura del rumen (Lassey et al. 2001) para luego ser pesadas una a dos veces por semana, durante 6 a 10 semanas (Berndt et al. 2014). A través de una regresión de masa *versus* tiempo podemos determinar la tasa de permeación como la pendiente de la recta que se ha generado, siendo exigido un coeficiente de determinación (R²) no menor a 0.9995, caso contrario la cápsula se descarta (Berndt et al. 2014).

Se debe tener en cuenta que la presión ruminal puede tener un efecto sobre el comportamiento de la cápsula de permeación, por tal motivo es recomendable que se utilicen las cápsulas con la mayor tasa de liberación (Vlaming 2008). Así mismo, Pinares-Patiño et al. (2008) recomiendan el uso de cápsulas con tasas de liberación lo más parecidas posible entre los tratamientos para garantizar la precisión de la técnica. Finalmente, la dosificación de las cápsulas debe realizarse por lo menos 7 días antes de la toma de muestras con la finalidad de adaptar las cápsulas al ambiente ruminal (Lassey et al. 2011).

b. Cromatografía de gases

La cromatografía de gases es una técnica cromatográfica que consiste en la separación de una mezcla de gases en sus componentes individuales con la finalidad de poder identificar (determinación cualitativa) y medir (determinación cuantitativa) cada componente. Para ello el cromatógrafo cuenta con tres componentes principales: el inyector, la columna y el detector. Lo primero es introducir una muestra en el inyector, la cual se calienta normalmente de 150 a 250 °C, vaporizándose los solutos volátiles de la muestra. Estos solutos vaporizados se introducen posteriormente en la columna mediante el gas portador (carrier) que usualmente es nitrógeno o helio. Los solutos pasan por la columna a

velocidades variables, lo cual está determinado principalmente por las propiedades físicas, la temperatura y la composición de la columna. Todas las moléculas correspondientes a un compuesto específico se desplazan por la columna prácticamente a la misma velocidad. Si las condiciones de la columna y todas las condiciones de funcionamiento son constantes, un compuesto determinado siempre tendrá el mismo tiempo de retención (tiempo que tarda el compuesto en atravesar la columna). A medida que se eluye cada soluto, se introduce en el detector calentado, donde se genera una señal electrónica basada en la interacción del soluto con el detector. El tamaño de la señal se registra en un sistema de datos y se representa gráficamente para generar un cromatograma. El tamaño de los picos y el tiempo de retención se usan para establecer la determinación cuantitativa y cualitativa (respectivamente) de un compuesto. Por ello es necesario analizar primero una cantidad conocida de una muestra pura del compuesto objetivo para determinar el tiempo de retención y el tamaño de los picos, así este valor se puede comparar con los resultados de una muestra desconocida para determinar si está presente el compuesto de interés (mediante la comparación de los tiempos de retención) y en qué cantidad (mediante la comparación del tamaño de los picos) (Agilent technologies 2010).

c. Número de animales y días de medición

Se ha encontrado que la técnica de gas trazador SF₆ presenta una mayor variabilidad con respecto a las mediciones realizadas por cámaras respiratorias, esto podría deberse a que la técnica por trazador refleja las variaciones reales de consumo de los animales bajo condiciones de pastoreo, es decir los animales no consumen la misma cantidad de alimento todos los días y por ende las emisiones varían. En ese sentido, se hace necesario establecer correctamente el número adecuado de animales y de días de medición que permitan encontrar diferencias significativas entre los tratamientos (Berndt et al. 2014). Berndt et al. (2014) realizaron un estudio de simulación con los datos obtenidos por Vlaming (2008), donde se variaba el número de animales por tratamiento y el número de días de medición por animal para así calcular en mil simulaciones, el número de ocasiones en las que se detectaban diferencias significativas entre dos grupos, siendo este expresado en porcentaje. Así por ejemplo, para un escenario con el 82% de probabilidad de hallar diferencias significativas entre dos grupos, era necesario utilizar 10 animales con 7 días de medición o 12 animales con 3 días de medición.

2.5.2. Ecuaciones de predicción

Las mediciones de metano suelen ser complejas y costosas, además de ser necesario el uso de equipos especializados (Hammond et al. 2016; Kebreab et al. 2006). En ese sentido es que surge la necesidad de generar ecuaciones de predicción; sin embargo, para ello se requiere una extensa data proveniente de números estudios bajo diferentes sistemas alrededor del mundo (Niu et al. 2018). En la literatura podemos encontrar numerosos trabajos dedicados a establecer dichas ecuaciones de predicción (Ellis et al. 2007; Grainger et al. 2007; Mills et al. 2003; Yan et al. 2006). Existen también programas que buscan predecir las emisiones a través de diferentes ecuaciones por modelación, tal y como el programa Life-Sim, que se encarga de estimar bajo distintas circunstancias (raza, peso, días de lactación, gestación, condiciones de alimentación, etc.) el consumo de materia seca (CMS) en kilogramos por vaca día para luego predecir las emisiones de metano a través de las siguientes ecuaciones (León et al. 2006):

$$\text{CH}_4 \text{ (g/d)} = 2.54 + 19.14 \times \text{CMS}$$

$$\text{CH}_4 \text{ (g/d)} = 18 + 22.5 \times \text{CMS}$$

$$\text{CH}_4 \text{ (g/d)} = 38 + 19.22 \times \text{CMS}$$

$$\text{CH}_4 \text{ (g/d)} = -66 + 39.2 \times \text{CMS} - 0.64 \times \text{CMS}^2$$

Dado que la producción de metano depende principalmente del consumo de materia seca (Buddle et al. 2011; Jonker et al. 2017), son muchas las ecuaciones que se encuentran en la literatura teniendo en cuenta este factor. Sin embargo, se sabe que la calidad del alimento ingerido (Boadi et al. 2002; IPCC 2007) también tiene impacto sobre las emisiones. Juárez et al. (2016) presenta una serie de ecuaciones para predecir emisiones de metano, encontrando que aquellas que tienen en cuenta también la composición del alimento como la concentración de fibra detergente neutro (%FDN) y la energía metabolizable (EM) son las que mejor predicen y minimizan el error. A continuación se detalla algunas de las ecuaciones utilizadas:

$$\text{CH}_4 \text{ (MJ/d)} = -2.639 + 2.149 \times \% \text{GI} + 0.068 \times \% \text{FDN} - 0.406 \times \text{EM} + 0.840 \times \text{CMS}$$

$$\text{CH}_4 \text{ (MJ/d)} = -7.381 + 2.249 \times \% \text{GI} + 0.071 \times \% \text{FDN} - 0.407 \times \text{EM} + 0.787 \times \text{CMS} + 0.009 \times \text{PV}$$

$$\text{CH}_4 \text{ (MJ/d)} = -5.124 + 2.3 \times \% \text{GI} + 0.84 \times \text{CMS}$$

$$\text{CH}_4 \text{ (MJ/d)} = 4.544 + 0.773 \times \text{CMS}$$

Donde %GI, es el porcentaje de grasa en la leche; PV, el peso vivo en kilogramos.

a. Metodología del IPCC

El factor de emisión (FE) en ganadería para la fermentación entérica, viene a ser los kilogramos de metano emitidos por animal durante un año.

Las Directrices del IPCC para el nivel 1, proporcionan un conjunto de factores de emisión por defecto, obtenidos de una revisión exhaustiva de la literatura, de esta manera multiplicando el FE por el número de cabezas de ganado de un país, se puede estimar sus emisiones de metano y llevarlo a CO₂-eq (FAO 2015).

Emisiones de GEI, en kg CH₄ por año = Número de ganado en cabezas * FE

Para llevar las emisiones a Gigagramos de metano (Gg CH₄) multiplicamos por 10⁻⁶. Finalmente, para convertir Gg CH₄ a Gg CO₂-eq debemos de multiplicar por el PCG del CH₄, que es de 21 (IPCC, 1995), 25 (IPCC, 2007., Cambra-López *et al.*, 2008), o 28 (IPCC, 2013) para un horizonte de 100 años.

Las Directrices del IPCC (2006) para el nivel 2, permiten estimar el FE a partir del consumo de energía bruta. El primer paso es calcular los requerimientos energéticos de mantenimiento (EN_m), actividad (EN_a), preñez (EN_p), lactación (EN_l):

$$EN_m \text{ (MJ/d)} = [0.038 + 0.0048 * (20 - T^\circ)] * PV^{0.75}$$

Donde T^o: temperatura diaria media en °C; PV: peso vivo del animal en kilogramos.

$$EN_a \text{ (MJ/d)} = 0.17 * EN_m$$

$$EN_p \text{ (MJ/d)} = 0.10 * EN_m$$

$$EN_l \text{ (MJ/d)} = \text{Cantidad de leche producida} * (1.47 + 0.40 * \% \text{Grasa en leche})$$

Luego se determina la relación de energía disponible de la dieta y la energía digerible consumida (R):

$$R = [1.123 - (4.092 * 10^{-3} * ED) + (1.126 * 10^{-5} * ED^2) - (25.4 / ED)]$$

Donde ED es la energía digestible como porcentaje de la energía bruta.

El siguiente paso es calcular el consumo de energía bruta (EB) en MJ por día:

$$EB \text{ (MJ/d)} = [(EN_m + EN_a + EN_p + EN_l)/R]/[ED/100]$$

Finalmente, para determinar el FE aplicamos la siguiente ecuación:

$$FE = EB * (Y_m/100) * 365/55.65$$

Donde el Y_m es el factor de conversión en metano, es decir, el porcentaje de la energía bruta del alimento convertida en metano; y 55.65 es el contenido de energía del metano (MJ/kg CH₄).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar y duración

El estudio se realizó en el Instituto Regional de Desarrollo de Sierra (IRD-Sierra) de la Universidad Nacional Agraria La Molina, ubicado en la localidad de San Juan de Yanamuelo, distrito de San Lorenzo, provincia de Jauja, departamento de Junín, a una altitud de 3,301 m.s.n.m. Su ubicación geográfica es 11°51'36" latitud sur y 75°23'48" longitud oeste. El ensayo se llevó a cabo de enero a noviembre del 2017, siendo los meses de colección de gases para la época lluviosa en marzo y para la época seca en agosto.

3.2. Animales experimentales

Se utilizaron 11 vacas lactantes de la raza Brown Swiss, multíparas (entre 2 y 3 partos), con 73.3 ± 35.5 días de lactación y 497 ± 66.9 kg de peso vivo en el mes de marzo; y con 216.3 ± 35.5 días de lactación y 499 ± 63.1 kg de peso vivo en el mes de agosto. Las características de los animales experimentales para ambos períodos se detallan en los Anexos I y II.

3.3. Tratamientos

Los tratamientos consistieron en comparar las emisiones de metano entérico de vacas en lactación temprana durante la época lluviosa (marzo) con las emisiones de las mismas vacas en lactación tardía durante la época seca (agosto).

Los animales recibieron en ambas temporadas una dieta compuesta por una pastura cultivada de alfalfa (*Medicago sativa*) y avena forrajera (*Avena sativa*) manejadas en parcelas con cerco eléctrico bajo pastoreo, con una suplementación diaria de 1 kg de concentrado. El experimento tuvo una duración de 28 días por temporada, 21 días de adaptación y 7 días de medición. Las emisiones de CH₄ entérico fueron muestreadas los últimos siete días de cada período, mediante la técnica de gas marcador hexafluoruro de azufre (Johnson et al. 1994). El manejo de la pastura y del pastoreo se realizó respetando la

modalidad de trabajo del lugar, de tal manera que los valores obtenidos son característicos de la zona. El terreno de ensayo tuvo un área aproximada de 3.7 hectáreas (2.5 ha de alfalfa y 1.2 ha de avena), donde se utilizó un sistema de pastoreo rotativo con una frecuencia de 4 semanas, manejado con cerco eléctrico. Estas áreas fueron pastoreadas desde las 08:00 hasta las 14:00 horas, siendo la avena pastoreada las primeras dos horas de la mañana para luego pasar al cultivo de alfalfa.

3.4. Aplicación de la técnica SF₆ como trazador de CH₄ entérico

Para la aplicación de la presente técnica, se realizó una capacitación en el INIA – Remehue, ubicado a 8 kilómetros al norte de Osorno, en Santiago de Chile, bajo la dirección de la Ph. D. Camila Muñoz quien cuenta con amplia experiencia y publicaciones (Muñoz et al. 2015 y 2016). Las técnicas aprendidas fueron adaptadas a las condiciones según se detalla a continuación (Haro et al. 2018).

3.4.1. Armado y puesta a punto de cánisters tipo yugo

Los cánisters son los contenedores donde se colectan las muestras eructadas y exhaladas por los animales. Estos deben ser herméticos para garantizar la adecuada conservación de la muestra. Los modelos son muy variados, sin embargo, para el presente estudio se utilizó el cánister tipo yugo o “V” invertida, siendo el volumen utilizado en vacunos de 2.5 litros (Lassey et al. 1997; Ulyatt et al. 1999).

Materiales empleados:

- Codo de 90°, 2” SP 60mm PVC-U (Marca PAVCO).
- Tubos de PVC-U PRESION 50 mm, 2”, PN 10 Rosca NTP (Marca PAVCO).
- Tapones 2” PVC – C 10 S/P.
- Codo macho de bronce, ¼” NPT macho. (Código: B-4-ME, Marca: Swagelok®).
- Base enchufe rápido instrumentación de bronce, Cv 0.2, 1/4 pulg. NPT hembra. (Código: B-QC4-B-4PF, Marca: Swagelok®).
- Macho/fresa de roscar (para hacer hilo) ¼ - 18. Marca: Black Cross.
- Pegamento azul para PVC.
- Teflón en rollo de 1/2" x 7.32MT. (Código: MS-STR-8, Marca: Swagelok®).

Una vez armados, se realizaron pruebas de vacío para descartar aquellos cánisters que no logran conservar la hermeticidad. Para ello se generó vacío a los cánisters con una bomba de vacío de doble etapa marca CPS, modelo VP12D. Luego se midió la presión con un manómetro diferencial digital marca Control C, código 3462, con un rango presión de -30 a + 30 psi, resolución 0.02 psi. La presión diferencial en Jauja a 3300 m.s.n.m al vacío fue de - 675 mbar la cual debía mantenerse luego de 72 horas, caso contrario el cánister era descartado.

3.4.2. Preparación y puesta a punto de las líneas de flujo

Las líneas de flujo se encuentran sujetas a las jáquimas y son las encargadas de captar y trasladar las muestras de gases emitidos por el animal. Para ello la línea debe asegurar la colección de muestra a una tasa constante durante todo el período de medición (24 horas), de tal manera de que el yugo quede lleno a un 40 por ciento de su capacidad.

Materiales empleados:

- Conector macho o Espiga enchufe rápido instrumentación con válvula (Código: B-QC4-D-200, Marca: Swagelok®).
- Manguera de Nylon de 1/8" (Código: NYBG-0108, Marca: Griflex).
- Férulas de latón 1/8" (OD) (Código: B-200-SET, Marca: Swagelok®).
- Filtro de partículas en línea de bronce, 1/8", tamaño de poro: 15 µm (Código: B-2F-15, Marca: Swagelok®).
- Tubo capilar de cromatografía × 1/16" (OD) × 0.005" (ID).
- Manguera de silicona de 5 mm diámetro interno (grado médico).
- Cintillos.
- Cinta aislante negra.

La línea de flujo presenta un pequeño capilar de acero de 0.005" de diámetro interno. Este es el que permite mantener un flujo constante de muestreo, donde la restricción está dada por la constricción del mismo. El capilar fue apretando en una zona específica hasta lograr un flujo de 0.95 a 0.98 CCM con nitrógeno ultra puro a una presión de + 800 mbar, que permitió obtener alrededor de - 400 mbar de presión diferencial en el cánister al final de un período de 24 horas de muestreo. Dicha calibración de capilar fue realizada con un flujómetro, marca Cole-Parmer, modelo CP-32908-53. Todas las líneas de flujo fueron probadas en laboratorio, donde cualquier línea que se alejó del 40% de llenado, se procedió a descartar.

3.4.3. Calibración y dosificación de las cápsulas de permeación

Las cápsulas de permeación fueron obtenidas de Canadá, proporcionadas por el Ph.D. Alan Iwaasa, investigador principal del Swift-Current Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada.

Las cápsulas fueron calibradas en la zona experimental (IRD-Sierra) por un período de 9 semanas, pesándose dos veces por semana durante las primeras 6 y una vez por semana en el tiempo restante. Estas fueron mantenidas en una estufa marca Binder con aire forzado a 39°C durante todo el período de calibración. Las cápsulas fueron pesadas a las 9 a.m. para cada día establecido durante su calibración.

El pesaje de las cápsulas se realizó en una balanza analítica marca Axis-AIn Lexus con una sensibilidad de 0.1 mg. Se utilizó para ello pinzas metálicas y guantes de nitrilo, evitando así el contacto directo con estas, de tal manera que no se altere el peso real de las cápsulas. La dosificación de las cápsulas de permeación se llevó a cabo una semana antes del período de toma de muestras de gases en el mes de marzo. El proceso fue al azar y se realizó con un lanza bolos para vacunos. Todas fueron dosificadas después del ordeño de la mañana, en el mismo día y a la misma hora. Los animales estuvieron en un corral bajo observación por una hora aproximadamente para detectar posibles regurgitaciones, para luego pasar a las pasturas.

Las características de las 11 cápsulas seleccionadas se detallan en el Anexo III y sus respectivas gráficas de regresión masa *vs.* se presentan en los Anexos del IV al XIV.

3.4.4. Adaptación de los animales experimentales

El período de adaptación tuvo una duración de 21 días para cada época, donde las 11 vacas experimentales fueron separadas del hato y acostumbradas al uso de las jáquimas y cánisters, así como al manejo del ensayo. Los últimos 7 días de este período corresponden a la adaptación de las cápsulas de permeación, así como del marcador dióxido de titanio (TiO₂) al ambiente ruminal.

3.4.5. Colección de CH₄ y SF₆ en campo

El período de colección de muestras tuvo una duración de 7 días para cada época. Aquí se colectaron las emisiones de las 11 vacas en estudio, así como aire ambiental (2 muestras por día) para determinar el nivel base de CH₄ y SF₆ (blancos).

Para este período se trabajó con 30 cánisters y 16 líneas de flujo previamente calibrados bajo las condiciones de la zona. Cada mañana (03:00 a.m.) los cánisters eran evacuados en el laboratorio con una bomba de vacío (marca CPS, modelo VP12D) y limpiados con nitrógeno ultra puro para remover los gases residuales (2 veces por cánister) para luego generar el vacío durante 3 minutos por cánister, tiempo probado con el cual se generaba el vacío total, -670 mbar en marzo y -685 mbar en agosto (presión diferencial).

Luego los cánisters eran trasladados a la sala de ordeño para ser colocados en los animales (6:00 a.m.) previo retiro de los cánisters con muestra del día anterior. Las presiones de los cánisters eran registradas tanto a la entrada (-680 mbar) como a la salida (-400 mbar) del período de muestreo (24 horas). Dado que las líneas de flujo fueron calibradas para un llenado del 40% de la capacidad del cánister, cualquier presión final fuera del rango de -380 a -410 mbar generaba el descarte de la muestra, ya que valores por debajo de 380 indicaban posibles fugas y valores por encima de 410 eran indicadores de posibles obstrucciones del sistema. Los cánisters con muestra eran trasladados al laboratorio.

3.4.6. Sub-muestreo a viales

Una vez llegados los cánisters con muestra al laboratorio, eran sobre-presurizados con nitrógeno ultra puro a +340 mbar y se dejaban reposando por 3 horas. Durante ese lapso de tiempo se preparan los viales Perkin Elmer de cromatografía de 22 ml (con septas de butilo y tapas de aluminio) para el sub-muestreo. Estos eran ensamblados con un crimpador automático Perkin Elmer de 20 mm, para luego ser sometidos a vacío por 3 minutos con una bomba CPS, modelo VP12D y un Loop de vacío de viales.

Para comprobar la calidad de sellado y hermeticidad del vial luego del vacío, se realizaba un muestreo al azar de 2 viales, los cuales se sumergían en agua y se les insertaba una aguja. Si el vacío era bueno, el vial se llenaba con agua sobrepasando el cuello del vial, de no ser el caso, el lote de viales crimpados se descartaba.

Pasadas las 3 horas de realizada la presurización con nitrógeno de los cánisters con muestra, se procedía a realizar el sub-muestreo con una línea de muestreo y una jeringa de 50 ml. La línea de muestreo consistió en una manguera de nylon de 1/4" con un conector macho Swagelok® (B-QC4-D-200) por un extremo y una unión Swagelok® de 1/4 a 3/8" (B-600-1-4) por el otro, adicional se utilizó silicagel con indicador para retener la posible humedad de las muestras. Para realizar el sub-muestreo se eliminaban las dos primeras tomas con la finalidad de limpiar la jeringa entre cánisters evitando una contaminación cruzada. Se tomaron dos sub-muestras por cánister. Todas la muestras en viales fueron refrigeradas a 4°C durante el período de colección para luego ser trasladadas vía aérea a la Universidad Nacional Agraria La Molina para su posterior análisis por cromatografía.

3.4.7. Lecturas por cromatografía gaseosa

La concentración de CH₄ (ppm) y SF₆ (ppt) de los viales fue determinada por cromatografía gaseosa, mediante la inyección manual de las muestras (0.6 ml) a un cromatógrafo de gases modelo 7890B, marca Agilent technologies. La temperatura del inyector fue de 200°C con una presión de 11.2 psi y un flujo de 8.12 ml/min. La temperatura del horno fue de 30°C con un tiempo de espera de 4.5 min. Se utilizó una única columna de sílice para hidrocarburos ligeros y gases azufrados, GS-GasPro marca Agilent technologies de 30 m y diámetro interno de 0.32 mm. La medición de CH₄ se realizó con un detector de ionización de flama (FID) de la marca Aligent technologies, con una sensibilidad ≤ 1.4 pico gramos. La temperatura del detector fue de 250°C utilizándose helio como gas portador (10 ml/min), hidrógeno como gas combustible (40 ml/min) y aire como gas oxidante (350 ml/min). La medición de SF₆ se realizó con un micro detector de captura de electrones (ECD) de la marca Agilent technologies. La temperatura del detector fue de 200°C utilizándose nitrógeno como gas portador (30 ml/min). Así mismo, se realizó la calibración con un estándar (Scott-Marrin Inc.) de concentración conocida, 48.7 ppm de CH₄ y 237.9 ppt de SF₆. El tiempo de retención del CH₄ y SF₆ fue de 1.5 y 2.9 minutos respectivamente.

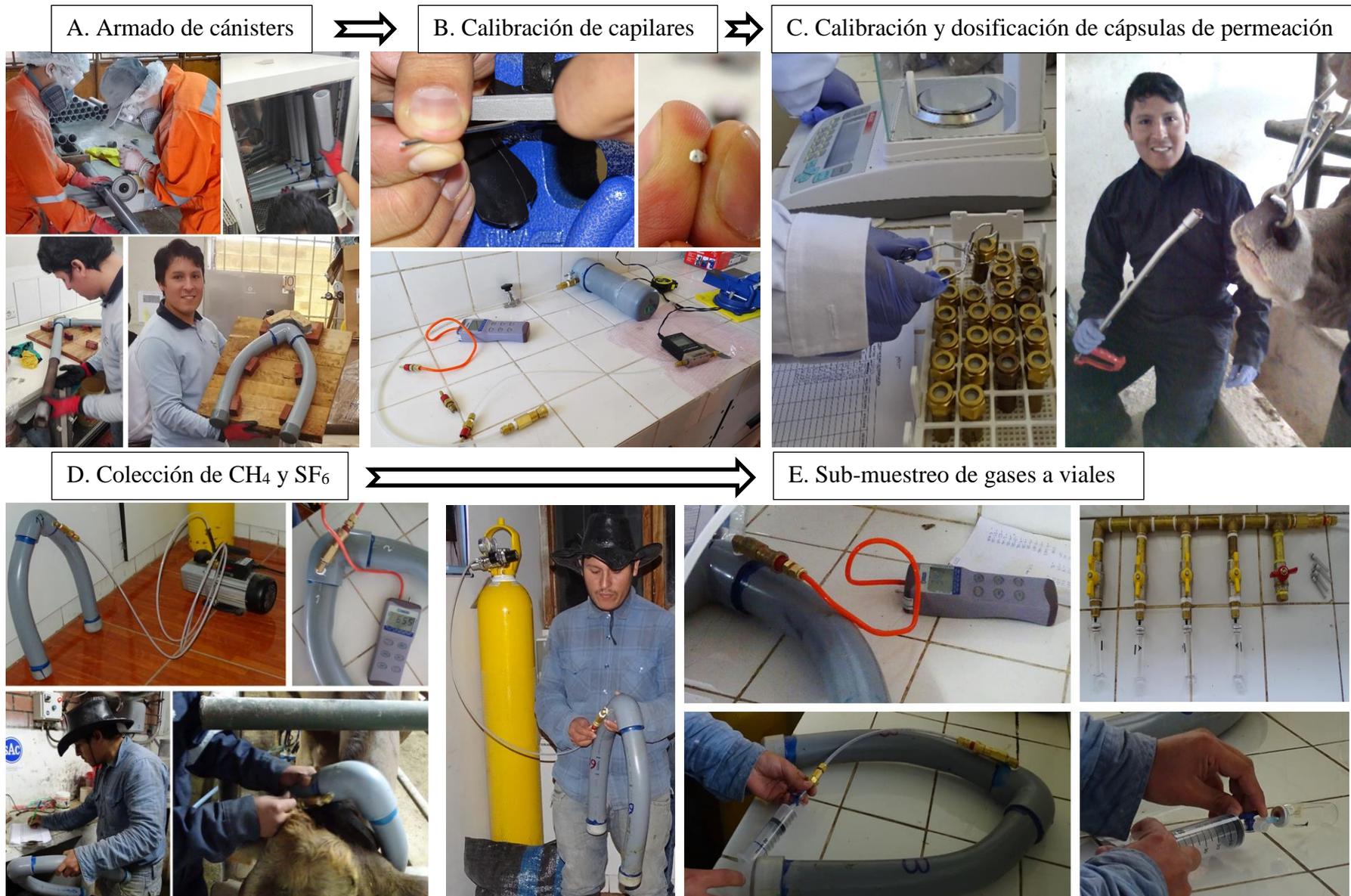


Figura 2: Diagrama de flujo de la técnica del gas trazador SF₆.

3.5. Mediciones en el alimento

La disponibilidad de forraje y calidad de la dieta fueron medidas con la finalidad de poder comprender y discutir los valores obtenidos de emisiones de CH₄ entérico. Así mismo, la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIMO) calculada por el método Hohenheim Gas Test, fue utilizada como un indicador de la calidad de la dieta, sin embargo, la digestibilidad de la materia orgánica calculada por regresión a partir del contenido de proteína cruda fecal (DMO) fue utilizada para poder calcular el consumo de alimento.

3.5.1. Disponibilidad de forraje

La disponibilidad de forraje viene a ser la cantidad de forraje por unidad de área en un momento dado y expresado en kilogramos de materia seca por hectárea (Ñaupari y Flores 1996). Esta medición se logra cortando la biomasa vegetal al ras del suelo, eliminando el material senescente, las especies no forrajeras y las partículas de suelo, para luego ser secadas y pesadas (ASRM 1962). Se muestreó tanto las parcelas de avena como de alfalfa al inicio de cada semana de medición, previo a la entrada de los animales. Para ello se utilizó un cuadrante de fierro de 0.5 m² el cual era lanzado al azar tres veces tanto en la parcela de alfalfa (de 600 m²) como en la de avena (de 300 m²), obteniendo así tres muestras de alfalfa y tres de avena para cada época como se detalla en el Anexo X.

3.5.2. Calidad de la Dieta

a. Composición Química del alimento

La composición química del forraje consumido se determinó a partir de muestras tomadas mediante la técnica de simulación manual (Austin et al. 1983). El proceso de simulación consistió en observar de cerca a cuatro de las once vacas experimentales durante las horas de pastoreo, para luego tomar muestras manuales representativas de la pastura que consumían dichos animales. La estación alimentaria se definió como el semicírculo en frente del animal de donde se cosechó el forraje (Flores 1983). Las muestras de pasto fueron colectadas al inicio y al final de la semana de medición de cada período y mezcladas para obtener una muestra representativa de cada época. Estas fueron secadas en estufa a 60 °C por 48 horas, para luego ser remitidas al laboratorio para su análisis químico de materia seca (MS), proteína cruda (PC), FDN, ceniza, energía bruta, y digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIMO). Así mismo dos muestras de concentrado fueron tomadas diariamente y mezcladas, tomando una sub muestra para su análisis químico de

materia seca (MS), proteína cruda (PC), FDN, ceniza, energía bruta, y digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIMO).

b. Digestibilidad del alimento

La digestibilidad de la materia orgánica del alimento, así como la energía metabolizable (EM) se determinó a través del método *in vitro* Hohenheim Gas Test (Menke et al. 1979). Las muestras de alimento se trasladaron al Instituto de Nutrición Animal de la Universidad de Hohenheim en Stuttgart-Alemania, allí fueron incubadas con licor ruminal por 24 horas, donde la producción de gas en dicho período es utilizado como un buen estimador de la digestibilidad de la materia orgánica así como de la EM según las siguientes ecuaciones (Close y Menke 1986):

$$\text{DIMO (g/kg MS)} = 149 + 8.9G_p + 0.448PC + 0.651C_z$$

$$\text{EM (MJ/kg MS)} = 1.06 + 0.157G_p + 0.0084CP + 0.022L - 0.0081A$$

Donde, DIMO es la digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica expresada en gramos por kilogramo de materia seca. G_p es la producción de gas en mililitros por cada 200 mg de muestra en base seca. PC, L y C_z son la proteína cruda, grasa cruda y ceniza cruda respectivamente, expresados en gramos por kilogramo de materia seca. EM es la energía metabolizable en Mega Joules por kilogramo de materia seca.

Hohenheim Gas Test

Este método fue diseñado por la Universidad de Hohenheim en Stuttgart-Alemania para estimar la digestibilidad de los alimentos a través de la incubación *in vitro* con licor ruminal y midiendo la producción de gases generada luego de 24 horas (Menke et al. 1979). Procedimiento:

- Se pesaron de 210 a 230 mg por muestra (aproximadamente 200 mg de materia seca) y se colocaron en jeringas de cristal de 100 ml de volumen (36 mm de diámetro externo y 200 mm de longitud) con pistones a los cuales se les agregó vaselina. Las jeringas llevan un pequeño tubo de silicona en la punta con un clip plástico para cerrar la salida.
- A las 6:30 am se procedió a preparar el medio (se puede visualizar su composición en el Anexo XX) para trabajar el licor ruminal, 30 minutos antes de recibirlo, el cual

estuvo listo justo antes su llegada (7:00 am). El medio se mantuvo a 39°C por baño con agua caliente, con aplicación de un flujo constante de CO₂ y constante agitación magnética para que el medio cambie de azul a rosado gracias al indicador resazurine, indicando una completa reducción del medio.



Figura 3: Preparación del medio de inoculación.

- El licor ruminal fue previamente filtrado, para luego ser agregado al medio totalmente reducido en una relación de uno de licor por dos de solución. Se mantuvo en un baño de agua a 39°C con el flujo de CO₂ y constante agitación magnética.

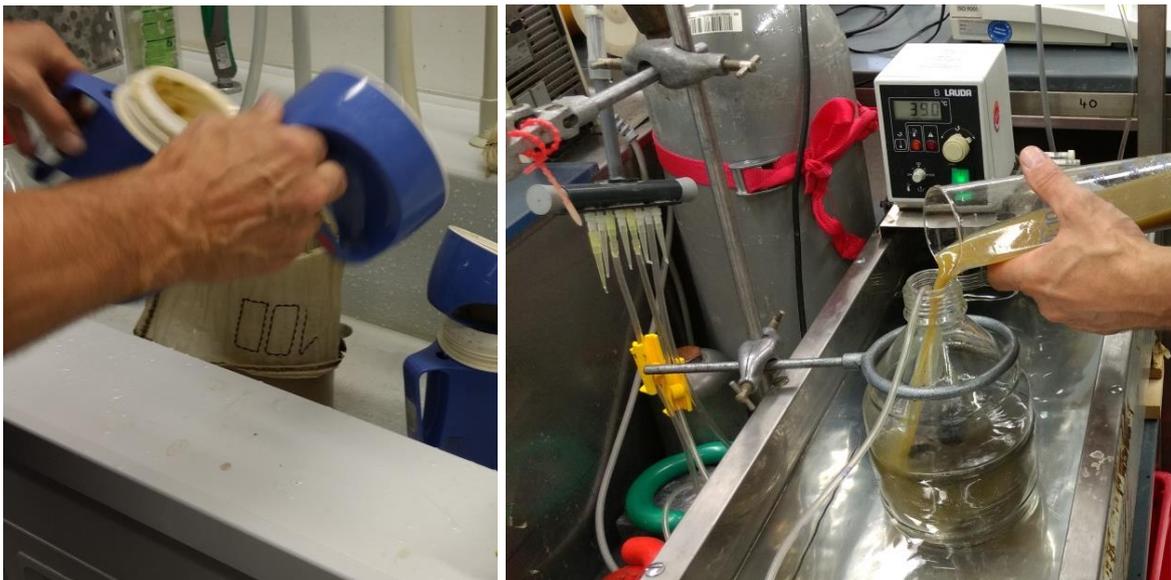


Figura 4: Filtrado e inoculación del licor ruminal.

- Se agregaron 30 ml de la mezcla de licor ruminal con el medio en cada jeringa, utilizando una pipeta automática de 50 ml de capacidad. Las jeringas fueron previamente atemperadas a 39°C mediante baño de agua tibia. Se eliminó cuidadosamente todo el aire de las jeringas, manteniéndose de ese modo mediante el clip plástico.



Figura 5: Dosificación de licor ruminal en jeringas para incubación.

- Acto seguido, las jeringas fueron incubadas a 39°C alrededor de las 7:15 am. Esta operación se realizó lo más rápido posible para evitar cambios de temperatura. Las muestras fueron agitadas cada hora, hasta la 1:15 pm.
- Todas las muestras fueron incubadas por triplicado y medidas tres veces en tres días distintos.
- Para estandarizar la variación en la actividad del licor ruminal se realizaron tres incubaciones en paralelo (también por triplicado). Un blanco que contuvo solo la mezcla de licor ruminal y del medio, y dos estándares mezclados con el licor ruminal y el medio. El primer estándar consistió en heno molido y el segundo es un concentrado. Estos estándares tienen una producción de gas conocida (49.16 y 61.13 ml/200mgMS

respectivamente), la cual debe coincidir con no más de 5% de variabilidad con lo observado en la incubación, de lo contrario se descarta todo el lote de muestras incubadas.

- La incubación fue a 39°C por 24 horas, para luego medir el volumen de gas producido.



Figura 6: Incubación de muestras a 39°C por 24 horas.

3.6. Mediciones en los animales experimentales

Se realizó la estimación de consumo de alimento con la finalidad de poder comparar las emisiones de CH₄ por unidad de consumo. Se midió la composición de la leche para poder corregir la producción de leche a un mismo nivel de energía y finalmente poder expresar y comparar las emisiones de CH₄ por unidad de leche corregida a energía (ECM).

3.6.1. Consumo de Alimento

Para la estimación del consumo de alimento, primero se estimó la cantidad total de heces excretada, utilizando el dióxido de titanio (TiO₂) como indicador externo del alimento (Smith y Reid 1954):

Excreción fecal de MO (g/d) = Cantidad de indicador administrada (g/d) / Concentración de indicador en la muestra fecal (g/g MO)

A través de una ecuación de regresión, se estimó la digestibilidad de la materia orgánica (DMO) a partir del contenido de proteína cruda fecal (Lukas et al. 2005):

$$\text{DMO (g/kg MS)} = 728.6 - 1077 * e^{(-0.01515*PC)}$$

Donde, PC es la proteína cruda fecal expresada en gramos por kilogramo de materia orgánica.

La estimación del consumo de materia orgánica (CMO), se da a partir de la excreción fecal de MO y la DMO (Smith y Reid 1954):

$$\text{CMO (g/d)} = \text{Excreción fecal de MO (g/día)} / [1 - \text{DMO (g/kg MS)/1000}]$$

Luego dividiendo el consumo de materia orgánica entre el porcentaje de materia orgánica de la dieta, se puede obtener el consumo de materia seca (CMS).

a. Dióxido de Titanio (TiO₂) como indicador

- La dosificación se realizó en el concentrado una vez por día durante el ordeño de la mañana, entre las 5:30 y las 6:00 horas por 14 días (7 días de adaptación y 7 días de colección) en cada período.
- Se colectó aproximadamente 100 g de heces por vaca día directamente del recto durante 7 días. La colección se realizó dos veces al día, durante los ordeños de la mañana (5:30 am) y de la tarde (14:00 pm). Estas fueron mezcladas y refrigeradas a 4°C para obtener una muestra compuesta por cada vaca experimental.
- Finalizado el experimento, las heces se homogenizaron para su posterior secado y molienda.
- Todas las muestras de heces fueron secadas en estufa por 48 horas aprox. a 40 °C. Luego se procedió a la molienda con un tamiz de 1 mm.
- Las muestras fueron analizadas en el Instituto de Nutrición Animal de la Universidad de Hohenheim en Stuttgart-Alemania.
- El análisis de TiO₂ se realizó como lo describen Brandt y Allam (1987).
- Primero se realizó la digestión de las muestras (0.5 g aprox.) por el procedimiento Kjeldahl, durante 3 horas. Se utilizó un blanco con 0.5 g de celulosa y un estándar con 0.007 g de TiO₂ y 0.5 g de celulosa.
- Luego se añadió 0.35 g de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) a la solución de TiO₂.

- Posteriormente se llevaron las muestras a la centrifuga a 12000 rpm durante 10 minutos.
- Finalmente, se realizaron las lecturas en un espectrofotómetro (Jenway 6300) a una longitud de onda de 405 nm.

Las concentraciones de TiO₂ halladas para estimar consumo se encuentran en el Anexo XXI.

3.6.2. Producción y composición de la leche

Durante toda la investigación las vacas fueron ordeñadas dos veces al día, alrededor de las 05:30 y 14:00 horas. La producción fue cuantificada con el medidor de leche Waikato MKV (Waikato Milking Systems LP) con 0.2 kg de precisión.

El muestreo de leche para el análisis de composición se realizó durante ambos ordeños para cada una de las vacas durante los 7 días de medición (70 ml aprox. por vaca en cada ordeño). Estas fueron mezcladas y refrigeradas a 4°C para obtener una muestra compuesta por cada vaca experimental. Las muestras fueron remitidas en una caja de tecnopor con gel refrigerante al Laboratorio de leche, derivados y carnes de la Universidad Nacional Agraria La Molina para su análisis.

La producción de leche corregida a energía (ECM) fue calculada usando las ecuaciones (1) y (2) (Tyrrell y Reid 1965):

$$\text{ECM (kg/d)} = \text{Producción de leche (kg/d)} \times \text{Contenido de energía en leche (MJ/kg)} / 3.1 \quad (1)$$

$$\text{Contenido de energía en leche (MJ/kg)} = (0.383 \times \% \text{Grasa}) + (0.204 \times \% \text{SNG}) - 0.2344 \quad (2)$$

3.6.3. Emisiones de metano entérico

Las emisiones de metano entérico por vaca día (CH₄Q; g/d) fueron calculadas con las mediciones de concentración de las muestras de SF₆ y CH₄ de los cánisters (SF₆C y CH₄C), las concentraciones de SF₆ y CH₄ de los blancos (SF₆B y CH₄B), la tasa de permeación de SF₆ predeterminada en mg por día (SF₆Q) y la masa molar de los gases (MM) según la siguiente ecuación (Williams et al. 2011):

$$\text{CH}_4\text{Q} = [\text{SF}_6\text{Q}] \times [(\text{CH}_4\text{C} - \text{CH}_4\text{B}) / (\text{SF}_6\text{C} - \text{SF}_6\text{B})] \times [\text{CH}_4\text{MM} / \text{SF}_6\text{MM}]$$

Sin embargo, Berndt et al. (2014) reportan la necesidad de corregir las concentraciones de CH₄ y SF₆ con las presiones iniciales y finales del período de muestreo, incluyendo la dilución de los gases como resultado de la sobre presurización con nitrógeno para colección de muestras. La fórmula planteada es la siguiente:

$$CGC = CG \times [PA - PN] / [PI - PF]$$

Donde:

CGC: Concentración de CH₄ (ppm) y SF₆ (ppt) corregida.

CG: Concentración de CH₄ (ppm) y SF₆ (ppt) obtenida del cromatógrafo.

PA: Presión ambiental promedio.

PN: Presión final del cánister luego de la sobre presurización con nitrógeno.

PI: Presión inicial del cánister al vacío.

PF: Presión final del cánister luego de las 24 horas de colección.

3.7. Análisis químicos

En el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA) del Departamento de Nutrición Animal de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), se analizó la proteína bruta (PB) de las heces, por el método Semi-Micro Kjeldahl según AOAC (1995); el contenido de fibra detergente neutro (FDN) de los pastos (avena y alfalfa) y concentrado, por la técnica de Van Soest et al. (1991); la energía bruta de los pastos (avena y alfalfa) y concentrado, mediante el ensayo del valor calorífico (bomba adiabática) empleando el método ASTM D-2015-66 (1972). En el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Zootecnia de la UNALM se analizó la concentración de CH₄ y SF₆ por cromatografía gaseosa de las muestras colectadas por la técnica del gas trazador SF₆ (Johnson et al. 1994). En el Laboratorio de leche, derivados y carnes del Programa de Investigación y proyección social en Carnes de la Universidad Nacional Agraria La Molina, se analizó el contenido de grasa y sólidos no grasos de la leche, a través de espectroscopia infrarroja (Milkoscope Julie Z7 automatic). En el Instituto de Nutrición Animal de la Universidad de Hohenheim en Stuttgart-Alemania se analizó para las muestras de pastos (avena y alfalfa) y concentrado, el contenido de materia seca analítica (MS) por secado en estufa (WTB Binder, Tipo F115) a 105 °C durante 24 h siguiendo el procedimiento descrito por Naumann y Bassler (2012); el contenido de cenizas mediante

el uso de un horno de Mufla a 550 °C durante cuatro horas siguiendo el procedimiento descrito por Naumann y Bassler (2012); la digestibilidad de la materia orgánica, así como la energía metabolizable (EM) a través del método *in vitro* Hohenheim Gas Test siguiendo la metodología de Menke et al. (1979). Para las muestras de heces se analizó la concentración de dióxido de titanio (TiO₂) según el procedimiento de Brandt y Allam (1987).

3.8. Análisis estadístico

Se utilizó la prueba T-pareada (Student 1908) con la finalidad de determinar si existen diferencias estadísticamente significativas para el mismo hato de vacas en dos estaciones distintas del año (época lluviosa-marzo y seca-agosto). Se realizó la validación de supuestos (normalidad y homocedasticidad), donde la normalidad se probó mediante el test Anderson-Darling. Los procedimientos fueron realizados con el programa Minitab versión 17 (2010).

T pareada = Promedio de las diferencias (xi – xii) / Error estándar;

Error Estándar = DE / \sqrt{n}

$$d_i = x_{i,1} - x_{i,2}$$

Donde:

d_i = Diferencia entre datos pareados

$x_{i,1}$ = Media de una muestra en el tiempo i.

$x_{i,2}$ = Media de la misma muestra en el tiempo ii.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Mediciones en el Alimento

4.1.1. Disponibilidad de forraje

En el Cuadro 2, se muestran los resultados de la disponibilidad de la pastura para la temporada lluviosa y seca. La base de datos se detalla en el Anexo XXII.

Cuadro 2: Disponibilidad de la pastura en época lluviosa y seca.

Parámetro	Alimento	Época		P-valor
		Lluviosa	Seca	
Biomasa Disponible (kg MS/ha)	Avena	3193 ^a ± 116.7	2603 ^b ± 98.2	0.041
	Alfalfa	2138 ^a ± 49.7	1313 ^b ± 83.3	0.009
	Total	2618 ^a ± 61.9	1899 ^b ± 58.9	0.009

En cada fila las medias seguidas por diferentes letras difieren estadísticamente ($P < 0.05$).

Fuente: Elaboración propia

La disponibilidad promedio de la pastura en el mes de marzo fue de 2,618 kg MS/ha, superior a la observada en el mes de agosto, 1,899 kg MS/ha, encontrándose diferencias altamente significativas ($p < 0.01$). Esta diferencia se debe a las frecuentes precipitaciones durante el mes de marzo y a la ausencia de las mismas en el mes de agosto. Según Salazar (2012), la producción de pastos baja hasta un 50% en la época seca por falta de agua en la zona del valle Mantaro. Se sabe que una mayor temperatura y humedad del suelo durante la época de lluvias conlleva a una mayor tasa de crecimiento (Avalos 1999). La disponibilidad encontrada en la época lluviosa se encuentra dentro del rango recomendado por el NRC (1987) que va de los 2,200 a los 3,000 kg MS/ha para que no existan limitaciones de consumo y conseguir un nivel de ingesta que permita maximizar la performance de los vacunos lecheros en sus diferentes estadios fisiológicos. Sin embargo, la disponibilidad encontrada en la época seca está por debajo de dicha recomendación. Valores similares fueron encontrados por Glowacki (2016) en una asociación alfalfa-

ryegrass-trébol con altos niveles de alfalfa, en las mismas instalaciones del IRD-Sierra (Jauja – Huancayo), 2,263 kg MS/ha en el mes de noviembre, 2,999 kg MS/ha en diciembre y 3,212 kg MS/ha para el mes de enero, siendo el aumento progresivo de las lluvias durante dichos meses la razón del incremento de la disponibilidad de la pastura. Así mismo, Avalos (1999) encontró en la sierra central, para una asociación de gramíneas-leguminosas, una mayor disponibilidad de forraje (3,263 kg MS/ha) entre los meses de febrero y mayo debido también a la prevalencia de lluvias.

4.1.2. Calidad de la Dieta

a. Composición Química y digestibilidad del alimento

Los resultados de calidad de dieta para la época lluviosa y seca se muestran en el Cuadro 3. Así mismo los resultados de digestibilidad determinados a través del contenido de nitrógeno fecal (DMO) se muestran en el Cuadro 4 y la base de datos se detalla en el Anexo XXIII.

Cuadro 3: Composición nutricional del alimento (Avena, alfalfa, concentrado y dieta total) en época lluviosa y seca (base seca).

Composición nutricional	Época							
	Lluviosa				Seca			
	Avena	Alfalfa	AC	Dieta Total	Avena	Alfalfa	AC	Dieta Total
Ceniza (g/kg MS)	47.8	98.5	59.0	74.3	44.4	91.9	36.3	67.0
MO (g/kg MS)	952	901	941	926	956	908	964	933
PC (g/kg MS)	72.1	307	92.0	193	66.3	240	159	161
FDN (g/kg MS)	377	346	291	356	436	362	320	389
FDNmo (g/kg MO)	396	384	309	384	456	399	332	416
DIMO (g/kg MS)	769	682	707	720	614	680	726	657
EB (MJ/kg MS)	16.8	17.8	17.8	17.4	17.4	17.6	18.9	17.6
EM (MJ/kg MS)	11.2	9.1	10.2	10.1	8.9	9.2	11.1	9.3

AC: Alimento concentrado; MO: Materia Orgánica; PC: Proteína Cruda; FDN: Fibra Detergente Neutro; FDNmo: FDN en base a la MO; DIMO: Digestibilidad in vitro de la MO estimada a partir de la producción de gases (Hohenheim gas test).

Fuente: Elaboración propia

El contenido de cenizas de la dieta total en la época lluviosa, 74.3 g/kg MS; fue ligeramente superior a la encontrada en la época seca, 67.0 g/kg MS. Esta caída estacional de las cenizas podría deberse a un descenso del fósforo que normalmente ocurre durante la época seca (Flores et al. 2007). Similar tendencia tuvo el contenido de cenizas de la alfalfa, época lluviosa, 98.5 g/kg MS; y época seca, 91.9 g/kg MS. Al respecto, Glowacki (2016) reportó para una asociación alfalfa-ryegrass-trébol, un valor promedio de 98.0 g/kg MS entre los meses de noviembre y enero (fines de época seca e inicios de lluvias).

La concentración de proteína cruda total de la dieta en la época lluviosa, 193 g/kg MS; fue superior a la hallada en la época seca, 161 g/kg MS, siendo en ambos casos un nivel superior al mínimo recomendado (100 g/kg MS) para cubrir el requerimiento de mantenimiento (NRC 1984). Estos valores fueron alcanzados principalmente por la presencia de alfalfa en la dieta, debido al gran aporte nitrogenado de la leguminosa (Bojórquez 1989), mejorando la calidad de la dieta en contraste a una con solo gramíneas.

El contenido de proteína cruda de la alfalfa para la época lluviosa, 307 g/kg MS; fue superior a la encontrada en la época seca, 240 g/kg MS. Glowacki (2016), en el IRD-Sierra (Jauja – Huancayo), encontró un contenido promedio de 212 g/kg MS para proteína cruda en una asociación alfalfa-ryegrass-trébol con altos niveles de alfalfa entre los meses de noviembre y enero, que corresponde a fines de época seca e inicios de lluvias, valor más bajo debido a la presencia de gramíneas. Para la época lluviosa del departamento de Cuzco, Velez (2010) reporta 332 g/kg MS de proteína cruda para alfalfa en estado vegetativo, valor ligeramente por encima al reportado para el mes de marzo (307 g/kg MS) en esta investigación. Así mismo, Quintana et al. (2013) reportan para la zona de Jauja, 224 g/kg MS de proteína cruda para alfalfa a fines de lluvias e inicio de seca, valor que está ligeramente por debajo al reportado para el mes de agosto (240 g/kg MS) de este estudio.

Por otro lado, Acuña et al. (1978) reportan también para la zona de Huancayo, un incremento en el nivel de proteína cruda (230 g/kg MS) en la época de lluvias (diciembre-abril) con respecto a la época seca (mayo-noviembre) (190 g/kg MS) para una asociación ryegrass-trébol.

El contenido de FDN total de la dieta en la época lluviosa, 356 g/kg MS; fue inferior a la observada en la época seca, 389 g/kg MS. La misma tendencia tuvo el contenido de FDN

de la alfalfa, época lluviosa, 347 g/kg MS; y época seca, 363 g/kg MS. Estos resultados coinciden con los encontrados por Glowacki (2016) en Jauja a fines de época seca e inicios de lluvias, con un contenido promedio de 361 g/kg MS de FDN en una asociación alfalfa-ryegrass-trébol con altos niveles de alfalfa. Velez (2010) reporta en el departamento de Arequipa, 331 g/kg MS de FDN para alfalfa en estado vegetativo, valor ligeramente por debajo al reportado para los meses de marzo y agosto en el presente estudio. La menor concentración de FDN encontrada en la época lluviosa es notoria en la avena debido a que ésta se encontraba en estado vegetativo temprano mientras que en la época seca se encontraba produciendo semilla.

La digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIMO) (método Hohenheim Gas Test) encontrada para la dieta total en el mes de marzo, 720 g/kg MS; fue superior a la del mes de agosto, 657 g/kg MS. Similar comportamiento se observó para la digestibilidad de la materia orgánica de la dieta a través del nitrógeno fecal (DMO), donde se encontraron diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) entre la época lluviosa (680 g/kg MS) y la seca (640 g/kg MS). Flores et al. (2006) reporta similar tendencia, al encontrar en una asociación de gramínea-leguminosa la más alta digestibilidad en el mes de marzo (609 g/kg) y la más baja para el mes de setiembre (438 g/kg MS), debido al efecto de la temporada lluviosa y seca respectivamente. Sin embargo, en el presente estudio, la DIMO (método Hohenheim Gas Test) de la alfalfa fue similar en marzo (682 g/kg MS) y agosto (680 g/kg MS). Similar tendencia obtuvo Glowacki (2016) para una asociación alfalfa-ryegrass-trébol con altos niveles de alfalfa, donde no encontró diferencias en la DIMO (método Hohenheim Gas Test) entre los meses de noviembre, y diciembre (720 g/kg MS), disminuyendo ligeramente en enero (710 g/kg MS). El mayor contenido de FDN encontrado en la avena durante la época seca se reflejó en una menor DIMO, probablemente debido a una mayor lignificación.

El contenido de energía metabolizable encontrada para la dieta total en la época lluviosa, 10.1 MJ EM/kg MS; fue superior por diferencia aritmética a la observada en la época seca, 9.3 MJ EM/kg MS. Sin embargo, la EM de la alfalfa fue similar en marzo (9.1 MJ EM/kg MS) y agosto (9.3 MJ EM/kg MS), siendo aportada la diferencia entre dietas por la caída de EM de la avena en la época seca. Este comportamiento fue muy similar con DIMO debido a que están altamente relacionadas. Valores muy similares reporta Glowacki (2016) para una asociación alfalfa-ryegrass-trébol con altos niveles de alfalfa, con un promedio de 9.5 MJ EM/kg MS.

Las diferencias encontradas en composición química de la dieta en ambas épocas revelan los efectos estacionales de la época lluviosa y seca, tal como lo evidencian Flores et al. (2005) en la zona de Pasco, donde se observa una caída de la calidad de la dieta a la llegada de la época seca. Mientras los valores de proteína, cenizas, digestibilidad y energía metabolizable caen en el temporada seca, el nivel de FDN se incrementa, dada la relación con los aumentos en el grado de madurez que experimenta el forraje al avanzar la estación seca (Avalos y Flores 2004). Similar efecto estacional encontró Ulyatt et al. (2002) para una asociación ryegrass-trébol blanco en Nueva Zelanda.

Cuadro 4: Digestibilidad de la dieta total determinada a través del contenido de Nitrógeno fecal (DMO) en época lluviosa y seca.

Parámetro	Época		P-valor
	Lluviosa	Seca	
DMO (g/kg MS)	680 ^a ± 18.22	640 ^b ± 16.08	0.000

En cada fila las medias seguidas por diferentes letras difieren estadísticamente ($P < 0.05$).

Fuente: Elaboración propia

4.2. Mediciones en los animales experimentales

4.2.1. Consumo de Alimento

Los resultados de consumo en la época lluviosa y seca se muestran en el Cuadro 5. La base de datos se detalla a partir del anexo XXIV al XXIX.

Los resultados de ingesta de alimento en vacas pastoreando avena y alfalfa con suplementación de 1.0 kg de concentrado fueron de 13.2 kg MS/vaca/d en la época lluviosa, es decir 2.7% del peso vivo promedio y de 9.7 kg MS/vaca/d (2.0%) para el mes de agosto, encontrándose diferencias altamente significativas ($p < 0.01$). La disminución en el consumo siguió un declive estacional normal a medida que avanzó la lactancia, acentuado por la baja disponibilidad de la pastura en la época seca. Estos niveles de consumo se encuentran ligeramente por encima de los reportados por Flores et al. (2006) para una asociación de gramínea-leguminosa en el departamento de Pasco (1.3 – 2.4% del peso vivo). Sin embargo, Glowacki (2016) reporta, en vacas lecheras Brown Swiss en las mismas instalaciones del IRD-Sierra, para una asociación alfalfa-ryegrass-trébol con altos niveles de alfalfa, un consumo promedio de 14.5 kg MS/vaca/d (3.3%) a fines de época seca e inicios de lluvias (calculado por balance energético), valor más elevado al reportado

en el presente trabajo, probablemente debido a la mayor suplementación de concentrado (4.1 kg/vaca/d).

Cuadro 5: Consumo de avena, alfalfa, concentrado y dieta total - época lluviosa y seca.

Consumo	Alimento	Época		P-valor
		Lluviosa	Seca	
MS (kg/d)	Avena	5.6 ^a ± 0.74	4.0 ^b ± 0.86	0.000
	Alfalfa	6.7 ^a ± 0.89	4.8 ^b ± 1.03	0.000
	Concentrado	0.90 ± 0.00	0.90 ± 0.00	-
	Total	13.2 ^a ± 1.64	9.7 ^b ± 1.89	0.000
Ceniza (g/d)	Avena	268 ^a ± 35.6	178 ^b ± 38.2	0.000
	Alfalfa	663 ^a ± 87.9	441 ^b ± 94.8	0.000
	Concentrado	53.1 ± 0.00	32.7 ± 0.00	-
	Total	984 ^a ± 123.5	651 ^b ± 133.1	0.000
PC (g/d)	Avena	404 ^a ± 53.7	265 ^b ± 57.0	0.000
	Alfalfa	2,062 ^a ± 273.6	1,154 ^b ± 248.2	0.000
	Concentrado	82.8 ± 0.00	143 ± 0.00	-
	Total	2,549 ^a ± 327.3	1,561 ^b ± 305.2	0.000
FDN (g/d)	Avena	2,114 ^a ± 281	1,743 ^b ± 375	0.002
	Alfalfa	2,330 ^a ± 309	1,740 ^b ± 374	0.000
	Concentrado	262 ± 0.00	288 ± 0.00	-
	Total	4,705 ^a ± 590	3,771 ^b ± 749	0.000
EB (MJ/d)	Avena	94.2 ^a ± 12.50	69.5 ^b ± 14.96	0.000
	Alfalfa	120 ^a ± 15.93	84.4 ^b ± 18.16	0.000
	Concentrado	16.0 ± 0.00	17.00 ± 0.00	-
	Total	230 ^a ± 28.42	171 ^b ± 33.12	0.000
EM (MJ/d)	Avena	63.0 ^a ± 8.36	35.6 ^b ± 7.66	0.000
	Alfalfa	61.4 ^a ± 8.15	44.4 ^b ± 9.55	0.000
	Concentrado	9.2 ± 0.00	10.0 ± 0.00	-
	Total	134 ^a ± 16.51	89.9 ^b ± 17.21	0.000

En cada fila las medias seguidas por diferentes letras difieren estadísticamente ($P < 0.05$).

Fuente: Elaboración propia

Para el consumo de proteína, se observó un mayor valor en la época lluviosa, 2,549 g/vaca/d; con respecto a la época seca, 1,154 g/vaca/d; existiendo diferencias altamente significativas ($p < 0.01$). El exceso de proteína en la dieta por sobre los requerimientos de mantenimiento se debe al gran aporte nitrogenado de la leguminosa (alfalfa) y a la preferencia del ganado por ésta (Bojórquez et al. 1989), como se puede observar en el presente estudio, la avena aporta menos del 20 % de la proteína dietaria. Glowacki (2016) reporta, para una asociación alfalfa-ryegrass-trébol con altos niveles de alfalfa, un consumo promedio de 413 g de Nitrógeno/vaca/d, equivalente a 2,583 gramos de proteína/vaca/d a fines de época seca e inicios de lluvias, valor que coincide con el encontrado en la época lluviosa para el presente estudio.

El consumo de FDN en la época lluviosa, 4,705 g/vaca/d; fue superior al observado en la época seca, 3,771 g/vaca/d; encontrándose diferencias altamente significativas ($p < 0.01$). Aparentemente, en la época seca el consumo de materia seca estuvo limitado en mayor medida por la disponibilidad de la pastura (1899 kg MS/ha) y no por el nivel de fibra de la dieta, como reportó Mendoza et al. (2011). Sin embargo, las concentraciones de FDN se encuentran dentro del rango (22.5 – 45.8%) observado a través de un meta-análisis de 18 experimentos en vacas lecheras por Arelovich et al. (2008), en el cual encuentra que conforme se incrementa la FDN, disminuye el consumo de materia seca. La misma tendencia fue encontrada por Llamas-Lamas y Combs (1991), Dado y Allen (1995).

La ingesta de energía metabolizable en la época lluviosa, 134 MJ/vaca/d; fue superior a la encontrada en la época seca, 89.9 MJ/vaca/d; existiendo diferencias altamente significativas ($p < 0.01$). El déficit de energía durante el período seco se debió al bajo consumo de materia seca como consecuencia de la pobre disponibilidad de la pastura y menor calidad de la misma. Así mismo, Glowacki (2016) reporta para una asociación alfalfa-ryegrass-trébol con altos niveles de alfalfa, un consumo promedio de 144 MJ/vaca/d, valor ligeramente por encima del observado en marzo para el presente estudio.

En el presente estudio, pese a la baja disponibilidad de la pastura en la estación seca, los animales recibieron la misma área de pastoreo en ambas estaciones debido a la escasa superficie de pastos cultivados de la zona, siendo esta escasez el común denominador de los ganaderos del valle Mantaro, donde muy pocos ensilan forraje para complementar la alimentación de sus animales en la época seca (Salazar, 2012). Aparentemente el consumo

de alimento fue afectado en menor medida por la calidad de la dieta, debido a la alta digestibilidad presentada por los animales en ambas estaciones; al parecer el consumo se vio afectado en mayor medida por una alimentación restringida dada la baja disponibilidad de las pasturas y el bajo número de horas con acceso a éstas (6 h/d aprox.), siendo más notorio en la estación seca.

4.2.2. Producción y composición de la leche

Los resultados de producción y composición de la leche en la época lluviosa y seca se muestran en el Cuadro 6. La base de datos se detalla en el anexo XXX y XXXI.

Cuadro 6: Producción y composición de leche en época lluviosa y seca.

Parámetros	Época		P-valor
	Lluviosa	Seca	
Producción de leche (kg/d)	13.7 ^a ± 2.41	10.6 ^b ± 2.67	0.000
Producción de grasa (g/d)	522 ^a ± 120.7	433 ^b ± 104.8	0.025
Grasa (%)	3.8 ^b ± 0.49	4.1 ^a ± 0.33	0.083*
ST (%)	12.4 ^a ± 0.85	12.0 ^a ± 0.42	0.224
SNG (%)	8.6 ^a ± 0.47	7.8 ^b ± 0.16	0.002
ECM (kg/d)	13.1 ^a ± 2.57	10.0 ^b ± 2.42	0.001

En cada fila las medias seguidas por diferentes letras difieren estadísticamente ($P < 0.05$).

*Nivel de significancia 0.10. ST: Sólidos totales; SNG: Sólidos no grasos; ECM: Leche corregida a energía.

Fuente: Elaboración propia

Se encontraron diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) entre los promedios de producción de leche diaria en la época lluviosa (13.7 kg/vaca/d) y seca (10.6 kg/vaca/d), así como para la producción de leche corregida a energía (13.1 vs. 10.0 kg/vaca/d). La producción de leche mostró un declive estacional normal a medida que avanzaba la lactancia, con el pico promedio de producción (13.7 kg/d) en el mes de marzo. Glowacki (2016) reporta, en vacas lecheras Brown Swiss en las mismas instalaciones del IRD-Sierra, para una asociación alfalfa-ryegrass-trébol con altos niveles de alfalfa, una producción promedio de 13.6 kg/vaca/d para inicios de lluvias, siendo muy similar al encontrado en la época lluviosa de la presente investigación.

La producción de grasa por vaca día fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en la época lluviosa (522 g/vaca/d) con respecto a la época seca (433 g/vaca/d), así mismo, el porcentaje de grasa en la leche tuvo una tendencia ($p < 0.10$) a ser mayor en la época seca (4.1%) con respecto a la época lluviosa (3.8%). Este aumento de concentración de grasa en la leche se debe al mayor contenido de pared celular (FDN) de la dieta, ya que como se sabe el porcentaje de grasa aumenta linealmente con el contenido de FDN en el alimento (Arelovich et al., 2008). Similar producción (537 g/vaca/d) y concentración (3.97%) de grasa reporta Glowacki (2016) para vacas lecheras Brown Swiss en la ciudad de Jauja.

No se encontraron diferencias significativas ($p = 0.224$) para la concentración de sólidos totales (12.4 vs. 12.0%), mientras que la concentración de sólidos no grasos fue mayor en la época lluviosa, 8.6%; con respecto a la época seca, 7.8%; ($p < 0.01$). Similar concentración de sólidos totales (12.3%) y sólidos no grasos (8.4%) reporta Glowacki (2016) para vacas lecheras Brown Swiss en la ciudad de Jauja.

4.2.3. Emisiones de metano entérico

Los resultados de emisión de metano entérico en vacas lactantes Brown Swiss al pastoreo en la zona de Jauja–Huancayo para época lluviosa y seca se muestran en el Cuadro 7. La base de datos se detalla en el anexo XXXII y XXXIII.

Cuadro 7: Emisión de metano entérico promedio de vacas en lactación en época lluviosa y seca en pastos cultivados (alfalfa y avena).

Emisión de CH ₄ entérico	Época		P-valor
	Lluviosa	Seca	
g CH ₄ /d	322 ^a ± 70.57	274 ^b ± 64.03	0.000
g CH ₄ /kg CMS	24.3 ^b ± 5.33	28.2 ^a ± 6.60	0.000
g CH ₄ /kg CMS digestible	35.7 ^b ± 7.84	44.1 ^a ± 10.30	0.000
g CH ₄ /kg CMO	26.3 ^b ± 5.76	30.3 ^a ± 7.08	0.001
g CH ₄ /kg CMO digestible	38.6 ^b ± 8.47	47.2 ^a ± 11.04	0.000
g CH ₄ /kg CFDN	68.4 ^a ± 15.00	72.6 ^a ± 16.98	0.135
g CH ₄ /kg ECM	24.6 ^b ± 5.40	27.5 ^a ± 6.44	0.007
Y _m (%)*	7.8 ^b ± 1.54	8.9 ^a ± 1.88	0.001

En cada fila las medias seguidas por diferentes letras difieren estadísticamente ($P < 0.05$). CMS: Consumo de MS; CMO: Consumo de MO; CFDN: Consumo de FDN. ECM: Leche corregida a energía; Y_m: Fracción de la EB destinada a la producción de metano. *55.65 MJ/kg de CH₄.

Fuente: Elaboración propia

En Perú solo se cuenta un estudio de medición de metano entérico, donde bajo una alimentación típica a base de pastizales altoandinos más suplementación de ensilado de avena, se reportó una emisión de metano de 422 g/d en la estación seca (Moscoso et al., 2017). En el presente estudio se obtuvo una emisión muy por debajo tanto en la estación lluviosa como en la seca, probablemente, debido a la mayor calidad de los pastos cultivados con respecto a los naturales (Flores et al., 2005). La emisión promedio de metano en la época lluviosa, 322 g/vaca/d; fue superior ($p < 0.01$) a la emisión observada en la época seca, 274 g/vaca/d. Las emisiones diarias de metano mostraron un patrón en las vacas que siguió a la variación estacional en la producción de leche y el consumo de alimento, teniendo las mayores emisiones al pico de lactación en la época lluviosa, reduciéndose significativamente con la declinación en la producción de leche en la época seca. Una mayor suplementación con proteína disminuye las emisiones de metano (Gidlund et al., 2017), dado que la fermentación de la proteína produce de 30 a 50% menos metano que la fermentación de los carbohidratos (Bannink et al., 2006), sin embargo el mayor consumo de proteína observado en la época lluviosa (Cuadro 4) no resultó en una menor emisión diaria de metano, dado que existe una fuerte relación con el nivel de consumo de materia seca y el consumo de NDF (Moe y Tyrrell 1979), siendo ambos mayores en la estación lluviosa (Cuadro 4). Similar tendencia reportó Ulyatt et al. (2002) con vacas lecheras en Nueva Zelanda. Como indican Buddle et al. (2011), Jonker et al. (2017), la emisión de metano está estrechamente relacionada al consumo de materia seca, por ello la mayor oferta forrajera observada durante la época lluviosa fue un factor determinante, dado que la mayor disponibilidad aumenta las emisiones totales de metano como resultado de un incremento en el consumo (Pinares-Patiño et al. 2003b). Muñoz et al. (2016) reportan una emisión diaria promedio de 322 g/vaca/d en vacas lecheras Holstein al pastoreo de ryegrass perenne, valor muy similar al obtenido en el presente estudio para la época lluviosa. Similares valores son reportados por Muñoz et al. (2015), 323 y 349 g/vaca/d, para vacas lecheras Holstein al pastoreo de ryegrass perenne con suplementación de un kilogramo de concentrado. Grainger et al. (2007) reportan un valor ligeramente más elevado, 331 g/vaca/d, para vacas Holstein alimentadas con ryegrass. Sin embargo, en Nueva Zelanda, Cavanagh et al. (2008) en un estudio de dos años con 698 vacas Jersey x Friesian reporta una amplia variación en las emisiones que van desde 151 a 497 g/vaca/d.

La emisión promedio de metano por unidad de consumo fue inferior en la época lluviosa, 24.3 g/kg CMS, 26.3 g/kg CMO, 35.7 g/kg CMS digestible, 26.3 kg CMO digestible; con respecto a la época seca, 28.2 g/kg CMS, 30.3 g/kg CMO, 44.1 g/kg CMS digestible, 30.3 g/kg CMO digestible; existiendo diferencias altamente significativas ($p < 0.01$). Se sabe que cuando aumenta el nivel de alimentación, la producción de metano se incrementa, sin embargo la emisión por unidad de consumo disminuye (Blaxter y Wainman 1961; Blaxter y Clapperton 1965; Johnson y Johnson 1995), esto debido a que una mayor ingesta acelera la tasa de paso del alimento, lo cual disminuye el tiempo de fermentación ruminal afectando la degradabilidad de la dieta (Hindrichsen et al. 2006; McAllister et al. 1996; Pinares-Patiño et al. 2003a). Así mismo, las dietas de alta calidad y digestibilidad generan menores emisiones de CH_4 , ya que su fermentación desvía los H_2 para la síntesis del ácido propiónico, que de otro modo irían hacia la producción de metano (Van Soest 1994). La disponibilidad de la pastura también afecta a las emisiones por unidad de consumo, dado que una baja oferta limita la oportunidad de seleccionar el forraje de mayor calidad (Ominski et al. 2004) tal y como se observó en el presente estudio. Los resultados en la época seca, coinciden con las mediciones realizadas en el centro experimental La Raya (Cusco), también en el mes de agosto (28.9 g/kg CMS) con una alimentación a base de pastura natural y suplementación de ensilado de avena (Chino 2016). Así mismo, Dini (2012) reporta una emisión promedio de 22.2 g/kg CMS en vacas Holstein en lactación al pastoreo de leguminosas y gramíneas, y Muñoz et al. (2016) reporta una emisión de 22.3 g/kg CMS en vacas lecheras Holstein al pastoreo de ryegrass perenne, valores ligeramente por debajo del obtenido la época lluviosa del presente estudio.

La emisión promedio de metano por unidad de fibra detergente neutra ingerida en la época lluviosa, 68.4 g/kg CFDN; fue similar a la emisión encontrada en la época seca, 72.6 g/kg CFDN; no existiendo diferencias significativas ($p = 0.135$). Sin embargo, la diferencia numérica se atribuye al potencial metanogénico más elevado de los carbohidratos estructurales frente a los no estructurales (Moe y Tyrrell 1979). En la época seca los carbohidratos estructurales se incrementaron a medida que aumentó la madurez de la planta, disminuyendo su digestibilidad, tal y como lo reporta la FAO (2013b). Por otro lado, los forrajes en estado vegetativo con mayores concentraciones de carbohidratos solubles favorecen las rutas de degradación de los carbohidratos hacia propionato disminuyendo la producción de metano (Murphy et al. 1982; Purcell et al. 2011). Dini (2012) reporta una emisión promedio de 47.8 g/kg CFDN en vacas Holstein en lactación al

pastoreo de leguminosas y gramíneas, valor que se encuentra muy por debajo del encontrado en el presente estudio, esto se debe probablemente al mayor consumo reportado (17 kg MS/vaca/d y 7,950 g de FDN/vaca/d).

La emisión promedio de metano por unidad de leche corregida a energía en la época lluviosa, 24.6 g/kg ECM; fue menor ($p < 0.01$) a la emisión encontrada en la época seca, 27.5 g/kg ECM. Se puede observar una reducción en la emisión debido a la mayor productividad animal durante la época lluviosa, como consecuencia de la mejora en la disponibilidad y calidad de la dieta, así como a la variación estacional en la producción de leche. La FAO (2013b) hace hincapié en que una nutrición mejorada a través de forrajes de mejor calidad, aumenta la productividad y disminuye las emisiones. Es por ello que incrementar la productividad animal es una excelente estrategia para mitigar el impacto ambiental (Bartl et al. 2011; Capper et al. 2009; Johnson y Johnson 1995), dando una amplia oportunidad a países en desarrollo para reducir sus emisiones (Gerber et al. 2011). Muñoz et al. (2016) reportan una emisión diaria promedio de 23.3 g/kg ECM en vacas lecheras Holstein al pastoreo de ryegrass perenne con una baja disponibilidad de forraje (2,311 kgMS/ha), estando este valor de emisión ligeramente por debajo del observado en marzo para el presente estudio.

El metano expresado como porcentaje de la energía bruta ingerida (Y_m) observado en la época lluviosa, 7.8 %; fue inferior al encontrado en la época seca, 8.9 %; existiendo diferencias altamente significativas ($p < 0.01$). Esto se debe a que la calidad y digestibilidad del alimento fueron superiores en la época lluviosa, y como se sabe estos afectan en mayor medida al Y_m (Harper et al. 1999; IPCC 2007). Los resultados de este estudio se encuentran dentro del rango reportado por Johnson y Johnson (1995), que va de 2 a 12%. Sin embargo, se encuentran por arriba del rango propuesto por el IPCC (2006) que va de 2 a 7.5%, mientras que Blaxter y Clapperton (1965), encontraron un rango de 7.5 a 9% en vacas en mantenimiento, pero este rango disminuía conforme se superaban los requerimientos de mantenimiento. Así mismo, Krishna et al. (1978) obtuvo un Y_m de 9% en la India para ganado *Bos indicus* con dietas de baja calidad y Montenegro et al. (2016) encontraron valores de 6.9% para una dieta de alta calidad y valores de 9 y 9.3% en dietas de baja calidad. Cabe resaltar que los inventarios de gases de efecto invernadero realizados por el MINAM utilizan un valor por defecto de Y_m de 6% para todos los departamentos del

país, valor muy por debajo del encontrado en el presente estudio, pero dentro del rango de lo recomendado por el IPCC (2006).

Finalmente, las tendencias encontradas en esta investigación, coinciden con lo reportado por Demarchi et al. (2016) y Ulyatt et al. (2002), quienes relacionan las variaciones de las emisiones de metano a un efecto estacional sobre la calidad del forraje y el consumo de materia seca.

VI. CONCLUSIONES

1. La emisión diaria de CH₄ entérico de vacas en lactación temprana durante la época lluviosa (322 g/vaca/d) fue superior (P<0.001) a las vacas en lactación tardía durante la época seca (274 g/vaca/d).
2. La emisión de CH₄ entérico por unidad de consumo de vacas en lactación temprana durante la época lluviosa (24.3 g/kg CMS) fue inferior (P<0.001) a las vacas en lactación tardía durante la época seca (28.2 g/kg CMS).
3. La emisión de CH₄ entérico por kilogramo leche corregida a energía de vacas en lactación temprana durante la época lluviosa (24.6 g/kg ECM) fue inferior (P<0.01) a las vacas en lactación tardía durante la época seca (27.5 g/kg EMC).

VII. RECOMENDACIONES

1. Utilizar cánisters tipo U-invertida en remplazo de los tipo V-invertida con la finalidad de evitar calentar los cánisters en la estufa para su doblado, lo cual podría disminuir el número de cánisters descartados por fugas al evitar que las uniones con pegamento pasen por el proceso térmico.
2. Contar con un mayor número de líneas de flujo durante la estación lluviosa, debido a que la mayor humedad aumenta la incidencia de problemas de obstrucción.
3. Desarrollar ecuaciones de predicción de emisión de metano entérico para nuestra realidad ganadera en base al consumo de materia seca, y calidad de la dieta (contenido de FDN y digestibilidad de la materia orgánica).

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACUÑA, H., LAOS, A., DEL VALLE, O., SAN MARTÍN, F. 1978. Evaluación del Rendimiento y del Valor Nutritivo de los pastos Cultivados. Informe Anual 1978. IVITA-UNMSM, Lima.

AGILENT TECHNOLOGIES. 2010. Guía de selección de columnas Agilent J&W para GC.

AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC international, 18th edition. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, Maryland, USA.

AMERICAN SOCIETY OF RANGE MANAGEMENT AND AGRICULTURE. 1962. Basic Problems and Techniques in Range Research. A Report of a Joint Committee of the American Society of Range Management and Agriculture Board. Publication N° 890. Washington D.C. p 45-81.

ARELOVICH, H., ABNEY, C., VIZCARRA, J., GALYEAN, M. 2008. Effects of dietary neutral detergent fiber on intakes of dry matter and net energy by dairy and beef cattle: analysis of published data. *The Professional Animal Scientist*, 24: 375–383.

ATTWOOD, G., MCSWEENEY, C. 2008. Methanogen genomics to discover targets for methane mitigation technologies and options for alternative H₂ utilization in the rumen. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48: 28-37.

AUSTIN, D., URNESS, P., FIERRO, L. 1983. Spring livestock grazing affects crested wheatgrass regrowth and winter use by mule deer. *Journal of Range Management*, 36: 586-593.

AVALOS, O. 1999. Dinámica de la Producción Forrajera y Planificación de la Alimentación de Vacas Lecheras al Pastoreo en una Asociación Gramínea-Leguminosa, en

la Sierra Central. Tesis para obtener el Grado de Magister Science en Producción Animal. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú.

BANNINK, A., KOGUT, J., DJIKSTRA, J., FRANCE, J., KEBREAB, E., VAN VUUREN, A., TAMMINGA, S. 2006. Estimation of the stoichiometry of volatile fatty acid production in the rumen of lactating cows. *Journal of Theoretical Biology*, 238, 36–51

BARTL, K., GÓMEZ, C., NEMECEK, T. 2011. Life cycle assessment of milk produced in two smallholder dairy systems in the highlands and the coast of Peru. *Journal of Cleaner Production*, 19: 1494-1505.

BEAUCHEMIN, K., KREUZER, M., O'MARA, F., MCALLISTER, T. 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48(2):21-27.

BERNDT, A., BOLAND, T., DEIGHTON, M., GERE, J., GRAINGER, C., HEGARTY, R., IWAASA, A., KOOLAARD, J., LASSEY, K., LUO, D., MARTIN, R., MARTIN, C., MOATE, P., MOLANO, G., PINARES-PATIÑO, C., RIBAUX, B., SWAINSON, N., WAGHORN, G., WILLIAMS, S. 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.

BHATTA, R., ENISHI, O., KURIHARA, M. 2007. Measurement of Methane Production from Ruminants. *Asian-Australasian Journal Animal Science*. 20(8):1305-1318.

BLAXTER, K., CLAPPERTON, J. 1965. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *British Journal of Nutrition*, 19: 511-522.

BLAXTER, K., WAINMAN, F. 1961. The utilization of food by sheep and cattle. *The Journal of Agricultural Science* 57(03):419-25.

BOADI, D., WITTENBERG, K., MCCAUGHEY, W. 2002. Effects of grain supplementation on methane production of grazing steers using the sulphur (SF_6) tracer gas technique. *Canadian Journal of Animal Science*, 82(2):151-157.

BOADI, D., WITTENBERG, K. 2002. Methane production from dairy and beef heifers fed forages differing in nutrient density using the sulphur hexafluoride (SF_6) tracer gas technique. *Canadian Journal of Animal Science* 82(2):201-06.

BOJÓRQUEZ, C., ACUÑA, H., SAN MARTÍN, F. 1989. Productividad de los Pastos Cultivados en tres Zonas Alto andinas de la Sierra Central. XII Reunión Científica Anual del APPA, Lima-Perú.

BRANDT, M., ALLAM, S. 1987. Analytik von Titandioxid im Darminhalt und Kot nach Kjeldahlaufschluß. *Archives of Animal Nutrition*. 37, 453-454.

BUDDLE, B., DENIS, M., ATTWOOD, G., ALTERMANN, E., JANSSEN, P., RONIMUS, R., PINARES-PATIÑO, C., MUETZEL, S., WEDLOCK, D. 2011. Review: Strategies to reduce methane emissions from farmed ruminants grazing on pastures. *The Vet Journal*, 188: 11-17.

CAMBRA-LÓPEZ, M., GARCÍA REBOLLAR, P., ESTELLES, F., TORRES, A. 2008. Estimación de las emisiones de los rumiantes en España: el factor de conversión de metano. Revisión bibliográfica. *Archivos de Zootecnia*, 57: 89-101.

CAPPER, J., CADY, R., BAUMAN, D. 2009. The environmental impact of dairy production: 1944 compared with 2007. *Journal of Animal Science*, 87: 2160–2167.

CAVANAGH, A., MCNAUGHTON, L., CLARK, H., GREAVES, C., GOWAN, J., PINARES-PATINO, C., DALLEY, D., VLAMING, B., MOLANO, G. 2008. Methane emissions from grazing Jersey \times Friesian dairy cows in mid lactation. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 48: 230–233.

CHINO, L. 2016. Evaluar la cantidad de metano producido en vacunos bajo condiciones de pastoreo con suplementación nutricional (ensilado y taninos) a 4300 m.s.n.m. en época

de secas. Tesis para optar por el título de Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

CLARK H, KELLIHER F, PINARES-PATIÑO C. 2011. Reducing CH₄ Emissions from Grazing Ruminants in New Zealand: Challenges and Opportunities. *Asian-Australasian Journal Animal Science*. 24: 295-302.

CLOSE, W., MENKE, K. 1986. Selected Topics in Animal Nutrition. A manual prepared for the 3rd Hohenheim Course on Animal Nutrition in the Tropics and Semi-Tropics. 2nd edition. The Institute of Animal Nutrition, University of Hohenheim.

CONAM. 2001. Comunicación nacional del Perú a la Convención de Naciones Unidas sobre Cambio Climático. Primera Comunicación. [En línea] 23 de octubre de 2016. www.unfccc.int/resource/docs/natc/pernc1.pdf

CRUTZEN, P., ASELMANN I, SEILER, W. 1986. Methane production by domestic animals, wild ruminants, other herbivorous fauna, and humans. *Tellus*, 38 (B): 271-284.

DALL-ORSOLETTA, C., ALMEIDA, J., CARVALHO, P., SAVIAN, J., RIBEIRO-FILHO H. 2016. Ryegrass pasture combined with partial total mixed ration reduces enteric methane emissions and maintains the performance of dairy cows during mid to late lactation. *Journal of Dairy Science*. 99:1-10.

DEMARCHI, J., MANELLA, M., PRIMAVESI, O., FRIGHETTO, R., ROMERO, L., BERNDT, A., LIMA, A. 2016. Effect of Seasons on Enteric Methane Emissions from Cattle Grazing *Urochloa brizantha*. *Journal of Agricultural Science*; Vol. 8, No. 4; 2016. Published by Canadian Center of Science and Education.

DEWHURST, R. 2013. Milk production from silage: comparison of grass, legume and maize silages and their mixtures. *Agricultural and Food Science*, 22:57-69.

DADO, R., ALLEN, M. 1995. Intake limitations, feeding behavior, and rumen function of cows challenged with rumen fill from dietary fiber on inert bulk. *Journal of Dairy Science*, 78: 118-133.

ELLIS, J., KEBREAB, E., ODONGO, N., MCBRIDE, B., OKINE, E., FRANCE, J. 2007. Prediction of methane production from dairy and beef cattle. *Journal of Dairy Science*, 90: 3456–3467.

FAO. 2009. *La Larga Sombra del Ganado. Problemas ambientales y opciones.* Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia.

FAO. 2013a. Enfrentando el cambio climático a través de la ganadería. Una evaluación global de las emisiones y oportunidades de mitigación. [En línea] 25 de diciembre de 2017. <http://www.fao.org/3/a-i3437s.pdf>

FAO. 2013b. 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 CO₂. Editado por Pierre J. Gerber, Benjamin Henderson y Harinder P.S. Makkar. *Producción y Sanidad Animal FAO Documento No. 177.* FAO, Roma, Italia.

FAO. 2015. Estimación de emisiones de gases de efecto invernadero en la agricultura. Un manual para abordar los requisitos de los datos para los países en desarrollo. Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia.

FLORES, E. 1983. Applying the concept of feeding stations to the behavior of cattle grazing variable amounts of available forage. A Thesis of Master of Science. Utah State University.

FLORES, E., CRUZ, J., ÑAUPARI, J. 2005. Utilización de praderas cultivadas en secano y praderas naturales para la producción lechera. *Boletín técnico CICCA-FDA-INCAGRO.* Lima-Perú.

FLORES, E., CRUZ, J., ÑAUPARI, J. 2006. Comportamiento nutricional, perfil alimentario y economía de la producción lechera en praderas cultivadas en secano: Caso Pasco. *Reporte Científico CICCA-FDA-INCAGRO-CONCYTEC.* Lima-Perú.

FORSTER, P., RAMASWAMY, V., ARTAXO, P., BERNTSEN, T., BETTS, R., FAHEY, D., HAYWOOD, J., LEAN, J., LOWE, D., MYHRE, G., NGANGA, J., PRINN, R., RAGA, G., SCHULZ, M., VAN DORLAND, R. 2007. Changes in

Atmospheric Constituents and in Radiative Forcing. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt K, Tignor M, and Miller H (Eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. 129-234.

GERBER, P., VELLINGA, T., OPIO, C., STEINFELD, H. 2011. Productivity gains and greenhouse gas emissions intensity in dairy systems. *Livestock Science*, 139: 100-108.

GIDLUND, H., HETTA, M., HUHTANEN, P. 2017. Milk production and methane emissions from dairy cows fed a low or high proportion of red clover silage and an incremental level of rapeseed expeller. *Livestock Science*, 197: 73-8.

GLOWACKI, S. 2016. Concentrate supplementation of lactating dairy cows grazing on alfalfa-ryegrass-clover sward in the Peruvian Andes: effects on feed intake, milk yield and protein conversion efficiency. Submitted for the degree of Master of Sciences in Organic Agriculture and Food Systems. University of Hohenheim. Faculty of Agricultural Sciences. Institute of Agricultural Science in the Tropics (490). Section Animal Nutrition and Rangeland Management in the Tropics and Subtropics (490i).

GRAINGER, C., CLARKE, T., MCGINN, S., AULDIST, M., BEAUCHEMIN, K., HANNAH, M., WAGHORN, G., CLARK, H., ECKARD, R. 2007. Methane Emissions from Dairy Cows Measured Using the Sulfur Hexafluoride (SF₆) Tracer and Chamber Techniques. *Journal of Dairy Science*, 90:2755–2766.

HAMMOND, K., CROMPTON, L., BANNINK, A., DIJKSTRA, J., YÁÑEZ-RUIZ, D., O'KIELY, P., KEBREAB, E., EUGENÈ, M., YU, Z., SHINGFIELD, K., SCHWARM, A., HRISTOV, A., REYNOLDS, C. 2016. Review of current in vivo measurement techniques for quantifying enteric methane emission from ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 219, 13–30.

HARO, J., MANCIPE, E., SIERRA, A., AVELLANEDA, Y., VARGAS, J., MAYORGA, O., ÑAUPARI, J., GÓMEZ, C. 2018. Manual de procedimientos de colección de gases para la estimación de emisiones de metano entérico y óxido nitroso de origen ganadero. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Universidad

Nacional Agraria la Molina, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. – Lima: IICA, 2018.

HARPER L, DENMEAD O, FRENEY J, BYERS F. 1999. Direct measurements of methane emissions from grazing and feedlot cattle. *Journal of Animal Science*. 77: 1392-1401.

HEGARTY, R. 1999. Reducing rumen methane emissions through elimination of rumen protozoa. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50: 1321-1327.

HINDRICHSEN, I., WETTSTEIN, H., MACHMULLER, A., KREUZER, M. 2006. Methane emission, nutrient degradation and nitrogen turnover in dairy cows and their slurry at different milk production scenarios with and without concentrate supplementation. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 113: 150-161.

IPCC. 1990. *Climate Change: The IPCC Impact Assessment*. Canberra, Australia: Australian Government Publishing Service.

IPCC. 1992. *Climate Change 1992. The Supplementary Report to the Scientific Assessment* (Ed. J. T. Houghton, B. A. Callander and S. K. Varney). Cambridge: Cambridge University Press.

IPCC. 1995. *Second Assessment Report (SAR). Climate Change 1995. IPCC - OMM - PNUMA*.

IPCC. 2006. *Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. Chapter 10: Emission from Livestock and manure Management*.

IPCC. 2006. *Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. Chapter 4: Agriculture, forestry and land use*.

IPCC. 2007. *Summary for Policymakers. In: Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z,*

Marquis M, Averyt K, Tignor M, Miller H. (Eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

IPCC. 2013. The final draft report-Technical Assessment. Work group I contribution to the IPCC 5th assessment report “Climate change 2013: The physical science basis”. Stocker, T.F.; Qin, D.; Plattner, G.K.; Tignor, M.; Allen, S.K.; Boshung, J.; Nauels, A.; Xia, Y.; Bex, V.; Midgley, P.M.

JANSSEN, P. 2010. Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Animal Feed Science and Technology* 160: 1–22.

JENSEN, B. 1996. Methanogenesis in monogastric animals. *Environ. Monit. Assess.*, 42: 99-112.

JOHNSON K, HUYLEM M, WESTBERG H, LAMBAR B, ZIMMERMAN P. 1994. Measurement of methane emissions from ruminant livestock using a SF₆ tracer technique. *Environmental Science and Technology*. 28: 359-362.

JOHNSON K, WESTBERG H, MICHAL J, COSSALMAN M. 2007. The SF₆ tracer technique: methane measurement from ruminants. Chapter 3. pp. 33-67.

JOHNSON, K., JOHNSON, D. 1995. Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science*. 73: 2483-2492.

JONKER, A., MOLANO, G., KOOLAARD, J., MUETZEL, S. 2017. Methane emissions from lactating and non-lactating dairy cows and growing cattle fed fresh pasture. *Animal Production Science*, 2017, 57, 643–648.

JUNG, H., ALLEN, M. 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *Journal of Animal Science*, 73: 2774–2790.

KASUYA H, TAKAHASHI J. 2010. Methane emissions from dairy cows fed grass or legume silage. *Asian-Australasian Journal Animal Science*. 23: 563-566.

KEBREAB, E., CLARK, K., WAGNER-RIDDLE, C., FRANCE, J. 2006. Methane and nitrous oxide emissions from Canadian animal agriculture: A review. *Canadian Journal of Animal Science*, 86, 135–158.

KORTE, C., CHU, A., FIELD, T. 1987. Pasture Prediction. In: *Livestock Feeding on Pasture*. Occasional Publication. Nro. 10. 145 pp.

KRISHNA, G., RAZDAN, M., RAY, S. 1978. Effect of nutritional and seasonal variations on heat and methane production in *Bos indicus*. *Indian Journal of Animal Science* 48, 366-370.

LANA, R., RUSSELL, J., VAN AMBURGH, M. 1998. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. *Journal of Animal Science*. 76(8): 2190-2196.

LASSEY K. 2007. Livestock methane emission: From the individual grazing animal through national inventories to the global methane cycle. *Agricultural and Forest Meteorology*. 142: 120-132.

LASSEY, K., PINARES-PATINO, C., VLAMING, J., SMITH, A., CLARK, H. 2011. Assessing the SF₆ tracer technique as an estimator of methane emissions from ruminants. Ministry of Agriculture and Forestry.

LASSEY, K., ULYATT, M., MARTIN, R., WALKER, C., SHELTON, I. 1997. Methane emissions measured directly from grazing livestock in New Zealand. *Atmospheric Environment* 31: 2905–2914.

LASSEY, K., WALKER, C., MCMILLAN, A., ULYATT, M. 2001. On the performance of SF₆ permeation tubes used in determining methane emission from grazing livestock. *Chemosphere-Global Change Science*, 3: 367-376.

LEÓN, C., QUIROZ, R., CAÑAS, R., OSORIO, J., GUERRERO, J., PEZO, D. 2006. Life – Sim: Livestock Feeding Strategies; Simulation models, International Potato Center, CIP, Lima Peru. Natural Resources Management; Working paper N° 20006-1. 37 p.

LE TREUT, H., SOMERVILLE, R., CUBASCH, Y., DING, C., MAURITZEN, A., MOKSSIT, T., PETERSON Y PRATHER M. 2007. Historical Overview of Climate Change. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor and H.L. Miller (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

LLAMAS-LAMAS, G., COMBS, D. 1991. Effect of forage to concentrate ratio and intake level on utilization of early vegetative alfalfa silage by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 74: 526-536.

LUKAS, M., SÜDEKUM, K., RAVE, G., FRIEDEL, K., SUSENBETH, A. 2005. Relationship between fecal crude protein concentration and diet organic matter digestibility in cattle. *Journal of Animal Science*, 83:1332–1344.

MARTÍNEZ, J., FERNÁNDEZ, B. 2004. *Cambio climático: una visión desde México*. Secretaría de medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto nacional de ecología.

MCALLISTER, T., OKINE, E., MATHISON, G., CHENG, K. 1996. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, 76:231–43.

MCCAUGHEY, W., WITTENBERG, K., CORRIGAN, D. 1999. Impact of pasture type on methane production by lactating beef cows. *Canadian Journal of Animal Science*, 79: 221–226.

MCDONALD, P., EDWARDS, R., GREENHALGH, J., MORGAN, C. 1995. *Animal Nutrition*. Singapore: Longman. 607 p.

MENDOZA, C., PABÓN, M., CARULLA, J. 2011. Variaciones diarias de la oferta forrajera, efecto sobre la producción y calidad de la leche. *Revista MVZ Córdoba*, 16(3):2721-2732.

MENKE, K., RAAB, L., SALEWSKI, A., STEINGAß, H., FRITZ, D., SCHNEIDER, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding-stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *The Journal of Agricultural Science (Camb.)*, 93:217-222.

MILLS, J., KEBREAB, E., YATES, C., CROMPTON, L., CAMMELL, S., DAHNOA, M., AGNEW, R., FRANCE, J. 2003. Alternative approaches to predicting methane emissions from dairy cows. *Journal of Animal Science*, 81: 3141–3150.

MINAM. 2009. Cambio Climático y Desarrollo Sostenible en el Perú. [En línea] 31 de diciembre de 2016. www.minam.gob.pe › CDAM0000323

MINAM. 2010. El Perú y el Cambio Climático. Segunda Comunicación Nacional del Perú a la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre Cambio Climático 2010. [En línea] 01 de enero de 2017. www.biam.minam.gob.pe/novedades/peruycambioclimaticoresumen.pdf

MINAM. 2016. El Perú y el Cambio Climático. Tercera Comunicación Nacional del Perú a la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre Cambio Climático. [En línea] 01 de enero de 2017. www.minam.gob.pe › uploads › 2016/05

MINITAB 17 STATISTICAL SOFTWARE (2010). [Software de ordenador]. State College, PA: Minitab, Inc. (www.minitab.com).

MOE, P., TYRRELL, H. 1979. Methane production in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 62: 1583–1586.

MONTENEGRO, J., BARRANTES, E., DILORENZO, N. 2016. Methane emissions by beef cattle consuming hay of varying quality in the dry forest ecosystem of Costa Rica. *Livestock Science*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2016.09.008>

MOSCOSO, J., FRANCO, F., SAN MARTÍN, F., OLAZÁBAL, J., CHINO, L., PINARES-PATIÑO, C. 2017. Producción de Metano en Vacunos al Pastoreo Suplementados con Ensilado, Concentrado y Taninos en el Altiplano Peruano en Época Seca. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 28(4): 822-833.

MOSS, A., JOUANY, J., NEWBOLD, J. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de Zootechnie*, 49: 231- 253.

MUÑOZ, C., HUBE, S., MORALES, J., YAN, T., UNGERFELD, E. 2015. Effects of concentrate supplementation on enteric methane emissions and milk production of grazing dairy cows. *Livestock Science*, 175: 37-46.

MUÑOZ, C., LETELIER, P., UNGERFELD, E., MORALES, J., HUBE, S., PÉREZ-PRIETO, L. 2016. Effects of pregrazing herbage mass in late spring on enteric methane emissions, dry matter intake, and milk production of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99: 1-11.

MURPHY, M., BALDWIN, R., KOONG, L. 1982. Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. *Journal of Animal Science*, 55: 411-421.

MURRAY, R., BRYANT, A., LENG, R. 1976. Rates of production of methane in the rumen and large intestine of sheep. *British Journal of Nutrition*, 36: 1-14.

NASA. 2016. Earth Fact Sheet. [En línea] 15 de noviembre de 2017. <http://nssdc.gsfc.nasa.gov/planetary/factsheet/earthfact.html>.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1984. Nutrient Requirements of Domestic Animals, Nutrient Requirements of Beef Cattle. 6 th.rev.ed. National Academy of Sciences. Washington, D.C.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1987. Predicting feed intake of food-producing animals. National Academy Press. Washington, D.C.

NAUMANN, C., BASSLER, R. 1976. Ergänzung 2012. Methodenbuch. Band III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln, VDLUFA-Verlag, Darmstadt, Germany.

NAVARRO-VILLA, A., O'BRIEN, M., LÓPEZ, S., BOLAND, T., O'KIELY, P. 2011. In vitro rumen methane output of red clover and perennial ryegrass assayed using the gas production technique (GPT). *Animal Feed Science and Technology*, 168: 152-164.

ÑAUPARI, J., FLORES, E. 1996. Análisis y Diseño de Planes de Alimentación en Pasturas. IV Congreso Nacional de Ingenieros Zootecnistas. Huancayo-Perú, Noviembre 1996.

OMINSKI, K., WITTENBERG, K., BOADI, D. 2004. Examination of economically and environmentally sustainable management practices in forage-based beef production systems, presented at the CCFIA Final Workshop, Winnipeg, January 2004.

ONU. 1992. Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático. [En línea] 6 de octubre de 2016. <http://unfccc.int/resource/docs/convkp/kpspan.pdf>.

ONU. 1998. Protocolo de Kioto de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático [En línea]. 17 de noviembre de 2016. <http://unfccc.int/resource/docs/convkp/kpspan.pdf>

ORPIN, C., JOBLIN, K. 1997. The rumen anaerobic fungi. In: Hobson, P.N. and Stewart, C.S. (Eds.). The rumen microbial ecosystem. Blackie Academic & Professional. London, UK. p.174.

PINARES-PATIÑO, C., LASSEY, K., MARTIN, R., MOLANO, G., FERNANDEZ, M., MACLEAN, S., SANDOVAL, E., LUO, D., CLARK, H. 2011. Assessment of the sulphur hexafluoride (SF6) tracer technique using respiration chambers for estimation of methane emissions from sheep. *Animal Feed Science and Technology*. 166: 201-209.

PINARES-PATIÑO, C., ULYATT, M., LASSEY, K., BARRY, T., HOLMES, C. 2003a. Rumen function and digestion parameters associated with differences between sheep in methane emissions when fed chaffed lucerne hay. *Journal of Agricultural Science*, 140: 205-214.

PINARES-PATIÑO, C., ULYATT, M., LASSEY, K., BARRY, T., HOLMES, C. 2003b. Persistence of differences between sheep in methane emission under generous grazing conditions. *Journal of Agricultural Science*, 140: 227-233.

PURCELL, P., O'BRIEN, M., BOLAND, T., O'DONOVAN, M., O'KIELY, P. 2011. Impacts of herbage mass and sward allowance of perennial ryegrass sampled throughout

the growing season on in vitro rumen methane production. *Animal Feed Science and Technology*, 166-167: 405-411.

PURCELL, P., O'BRIEN, M., NAVARRO-VILLA, A., BOLAND, T., MCEVOY, M., GROGAN, D., O'KIELY, P. 2012. In vitro rumen methane output of perennial ryegrass varieties and perennial grass species harvested throughout the growing season. *Grass and Forage Science*.

QUINTANA, E., JIMÉNEZ, R., CARCELÉN, F., SAN MARTÍN, F., ARA, M. 2013. Efecto de dietas de alfalfa verde, harina de cebada y bloque mineral sobre la eficiencia productiva de cuyes. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 24(4): 425-432.

SALAZAR, A. 2012. Modelo DOUHARD para la gestión de sistemas de producción lechera en pequeños productores del valle del Mantaro. Tesis para obtener el Grado de Magister Science en Producción Animal. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú.

SESHADRI, R., LEAHY, S., ATTWOOD, G., TEH, K., LAMBIE, S., COOKSON, A., ELOE-FADROSH, E., PAVLOPOULOS, G., HADJITHOMAS, M., VARGHESE, N., PAEZ-ESPINO, D., HUNGATE1000 PROJECT COLLABORATORS, PERRY, R., HENDERSON, G., CREEVEY, C., TERRAPON, N., LAPEBIE, P., DRULA, E., LOMBARD, V., RUBIN, E., KYRPIDES, N., HENRISSAT, B., WOYKE, T., IVANOVA, N., KELLY, W. 2018. Cultivation and sequencing of rumen microbiome members from the Hungate1000 Collection. *Nature biotechnology*. © 2018 Nature America, Inc., part of Springer Nature.

SMITH, A., REID, J. 1954. Use of chromic oxide as an indicator of fecal output for the purpose of determining the intake of pasture herbage by grazing cows. *Journal of Dairy Science*, 38: 515-524.

STUDENT. 1908. The Probable Error of a Mean. *Biometrika*, volumen VI.

TYRRELL, H., REID, J., 1965. Prediction of the energy value of cow's milk. *Journal of Dairy Science*. 48,1215–1223.

TYRRELL, H., THOMSON, D., WALDO, D., GOERING, H., HAALAND, G. 1992. Utilization of energy and nitrogen by yearling Holstein cattle fed direct-cut alfalfa or orchardgrass ensiled with formic acid plus formaldehyde. *Journal of Animal Science*, 70: 3163–3177.

ULYATT, M., BAKER, S., MCCRABB, G., LASSEY, K. 1999. Accuracy of SF₆ tracer technology and alternatives for field measurements. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50: 1329-1334.

ULYATT, M., LASSEY, K., SHELTON, I., WALKER, C. 2002. Seasonal variation in methane emission from dairy cows and breeding ewes grazing ryegrass/white clover pasture in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 45:4, 217-226.

VAN SOEST, P., ROBERTSON, J., LEWIS, B. 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74: 3583-3597.

VAN SOEST, P. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Ithaca, N.Y., Cornell University Press.

VAN ZIJDERVELD, S., GERRITS, W., APAJALAHTI, J., NEWBOLD, J., DIJKSTRA, J., LENG, R., PERDOK, H. 2010. Nitrate and sulfate: Effective alternative hydrogen sinks for mitigation of ruminal methane production in sheep. *Journal of Dairy Science*. 93: 5856–5866.

VELEZ, V. 2010. *Tablas de composición de Alimentos UCSM 2010*. INCAGRO, Innovación y Competitividad para el Agro peruano. Arequipa 2010.

VLAMING J. 2008. Quantifying variation in estimated methane emission from ruminants using the SF₆ tracer technique. Thesis Doctoral. Palmerston North, New Zealand, Massey University. 186 p.

WAGHORN, G., WOODWARD, S., TAVENDALE, M., CLARK, D. 2006. Inconsistencies in rumen methane production – effects of forage composition and animal genotype. *International Congress Series* 1293: 115–118.

WILLIAMS, A., COLEMAN, G. 1997. The rumen Protozoa. In: Hobson, P.N. and Stewart, C.S. (Eds.). The rumen microbial ecosystem. Blackie Academic & Professional. London, UK. p.82.

WILLIAMS, S., MOATE, P., HANNAH, M., RIBAUX, B., WALES, W., ECKARD, R. 2011. Background matters with the SF₆ tracer method for estimating enteric methane emissions from dairy cows: A critical evaluation of the SF₆ procedure. *Animal Feed Science and Technology*, 170 (2011) 265– 276.

YAN, T., MAYNE, C., PORTER, M. 2006. Effects of dietary and animal factors on methane production in dairy cows offered grass silage based diets. *International Congress Series* 1293, 123–126.

ZÚÑIGA, N. 2016. Estimación de las emisiones en bovinos en los sistemas de producción lechera en pequeña escala a través del factor de conversión de metano. Tesis para obtener el Grado de Doctor en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Universidad Autónoma del Estado de México. Programa en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

IX. ANEXOS

Anexo I. Características de los animales experimentales durante la época lluviosa.

Primer período de medición – Época lluviosa (Marzo)					
Código de vaca	Fecha de nacimiento	Edad (años)	Nº partos	Días de Lactación	Peso vivo inicial (Kg)
110101	01/01/2011	6.2	3	46	603
110201	01/02/2011	6.1	3	61	591
110402	02/04/2011	5.9	3	93	565
110601	01/06/2011	5.7	3	56	530
111201	01/12/2011	5.2	3	108	511
120602	02/06/2012	4.8	2	53	466
120803	03/08/2012	4.6	2	97	428
121102	02/11/2012	4.3	2	121	416
130105	05/01/2013	4.2	2	62	472
130106	06/01/2013	4.2	2	108	435
130502	02/05/2013	3.8	2	1	452

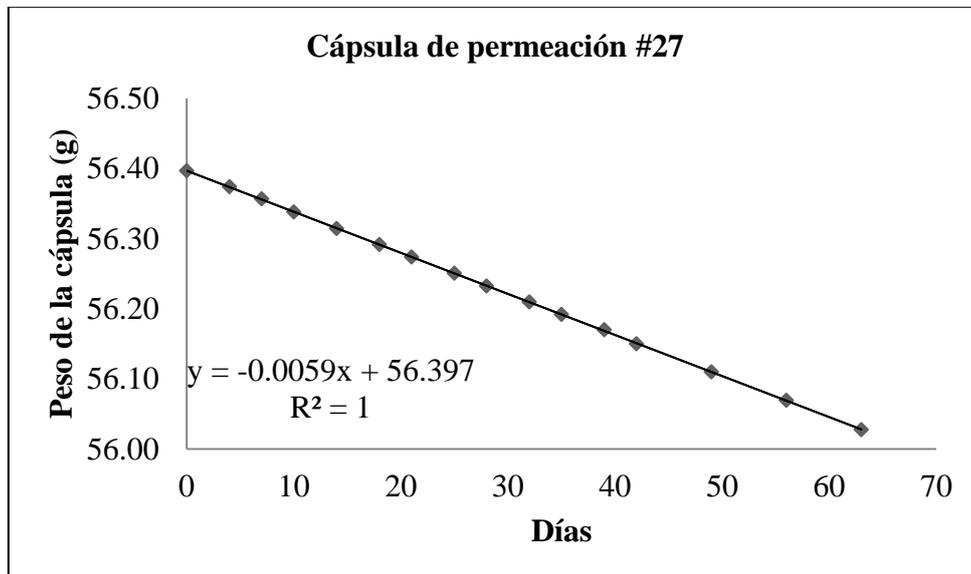
Anexo II. Características de los animales experimentales durante la época seca.

Segundo período de medición – Época seca (Agosto)					
Código de vaca	Fecha de nacimiento	Edad (años)	Nº partos	Días de Lactación	Peso vivo inicial (Kg)
110101	01/01/2011	6.5	3	189	578
110201	01/02/2011	6.5	3	204	577
110402	02/04/2011	6.3	3	236	577
110601	01/06/2011	6.1	3	199	539
111201	01/12/2011	5.6	3	251	527
120602	02/06/2012	5.1	2	196	442
120803	03/08/2012	5.0	2	240	423
121102	02/11/2012	4.7	2	264	442
130105	05/01/2013	4.6	2	205	501
130106	06/01/2013	4.6	2	251	442
130502	02/05/2013	4.2	2	143	440

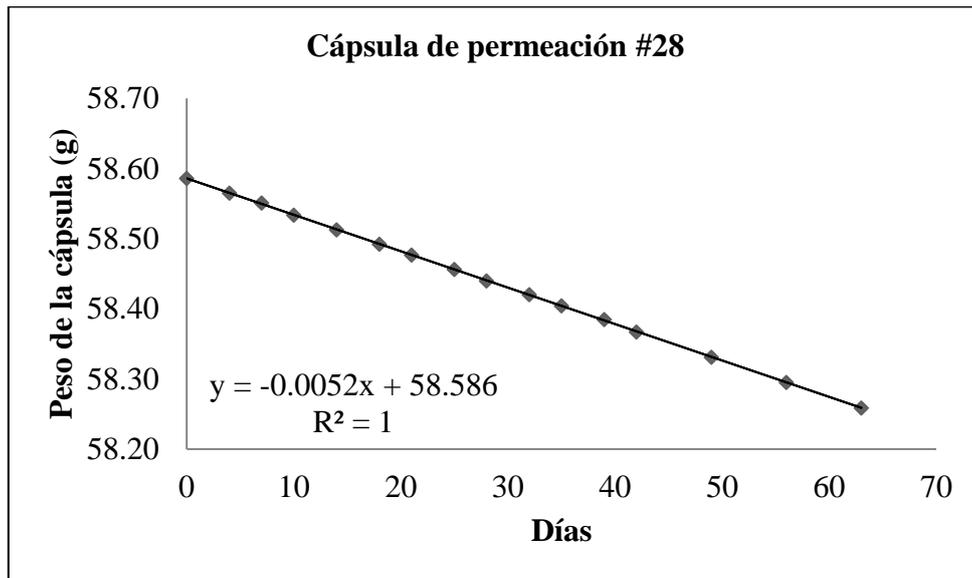
Anexo III. Características de las cápsulas de permeación seleccionadas.

N° De Tubo Permeación	Carga de SF ₆ (mg)	Tasa de permeación (mg/d)	R ²
27	2,615.4	5.85	1.0000
28	2,564.9	5.20	1.0000
29	2,551.8	5.03	0.9999
30	2,561.5	4.90	0.9999
31	2,523.2	4.67	0.9999
32	2,528.0	5.91	0.9999
33	2,238.5	5.08	0.9999
34	2,522.2	6.77	1.0000
35	2,785.0	5.07	0.9999
36	2,573.5	5.12	0.9999
37	2,548.7	4.56	0.9999

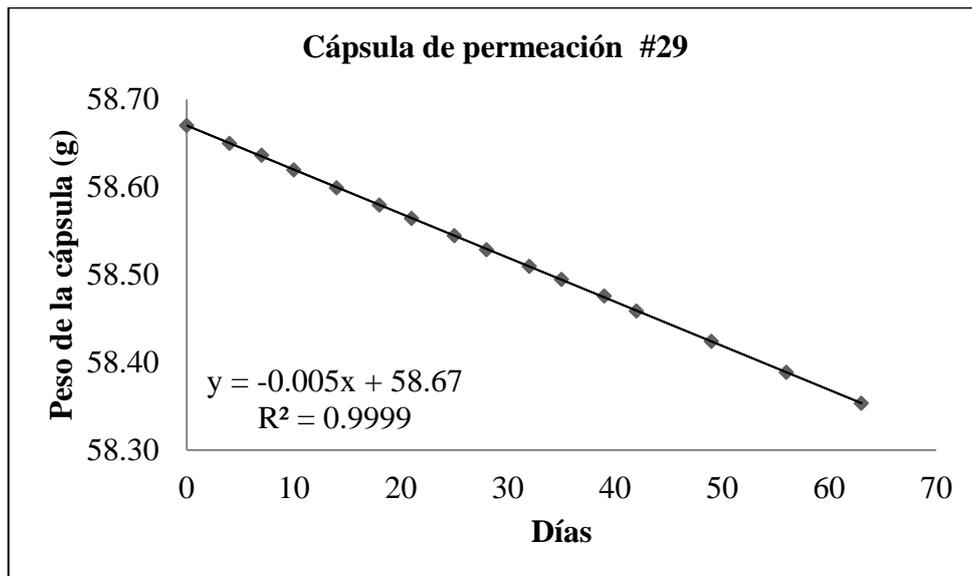
Anexo IV. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 27.



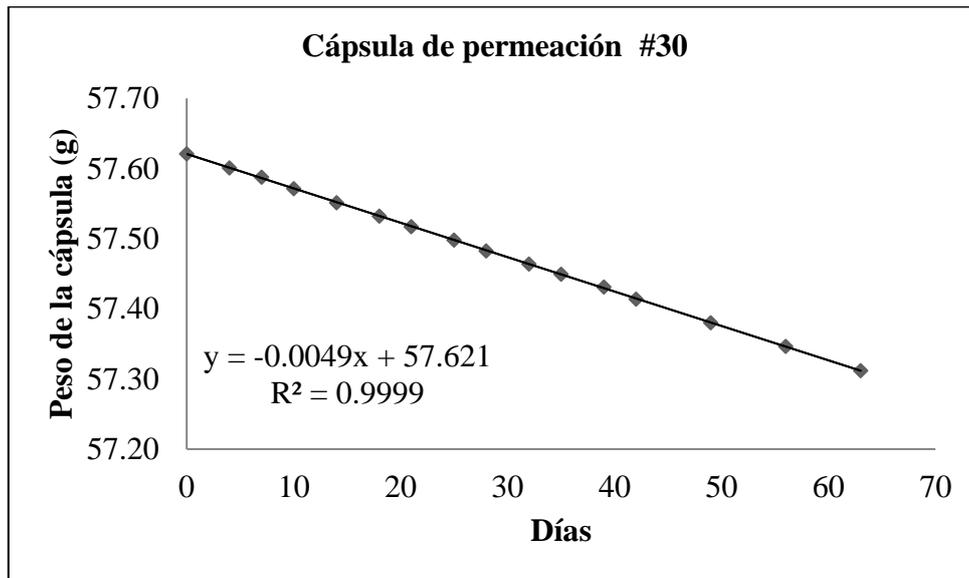
Anexo V. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 28.



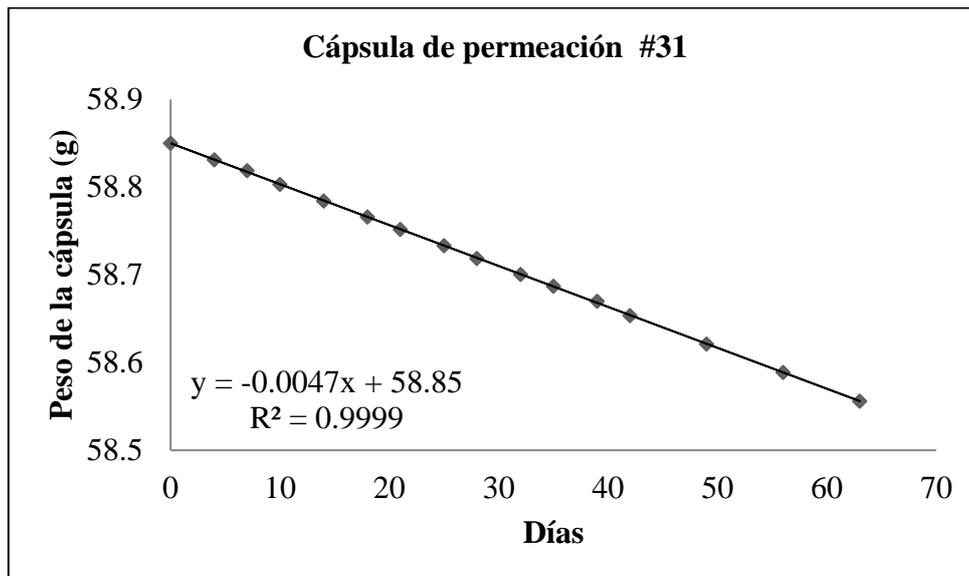
Anexo VI. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 29.



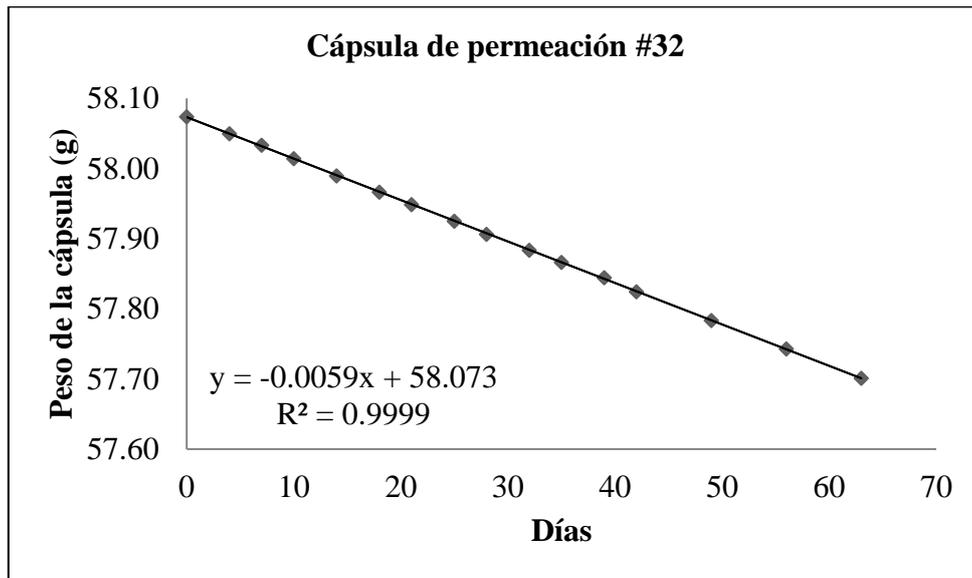
Anexo VII. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 30.



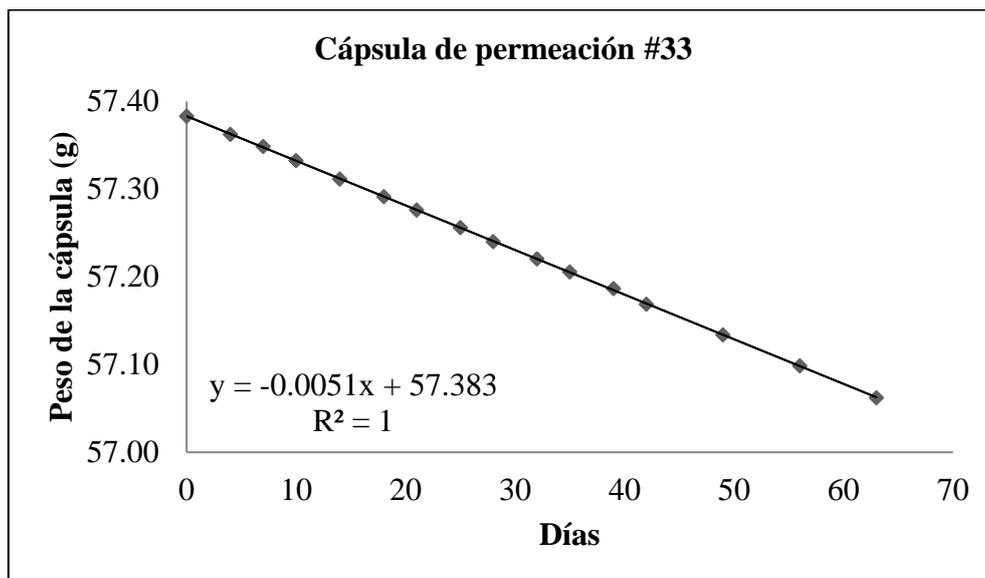
Anexo VIII. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 31.



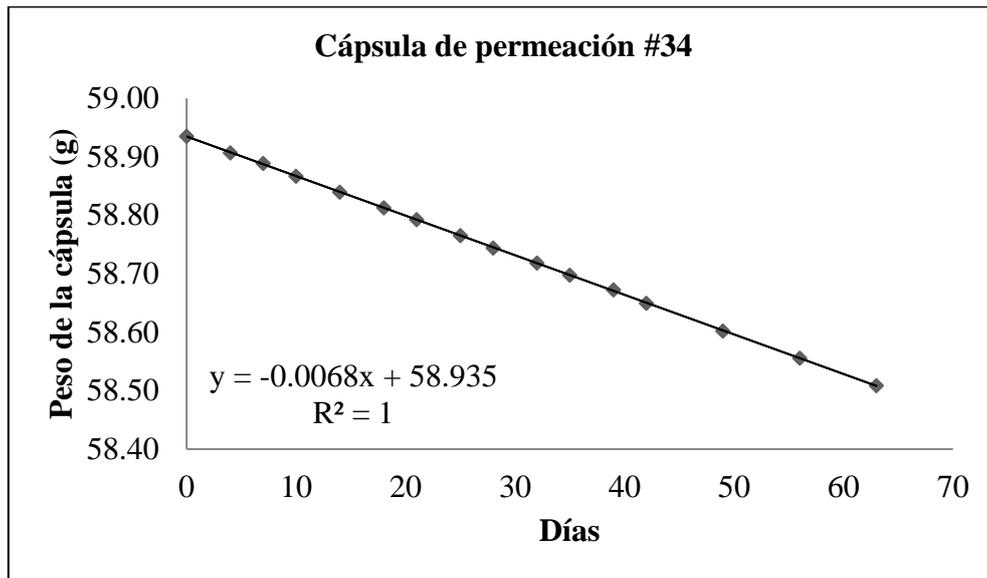
Anexo IX. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 32.



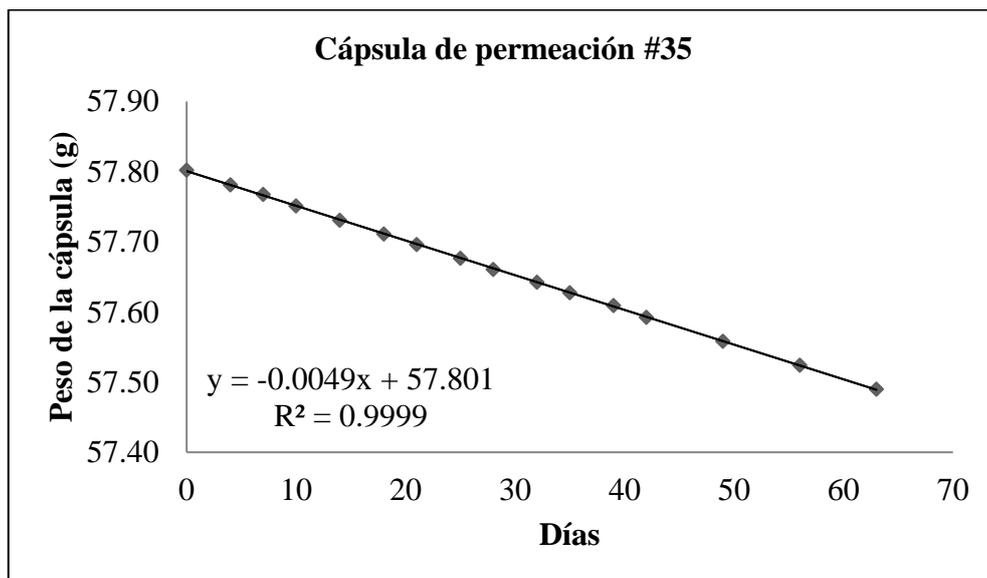
Anexo X. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 33.



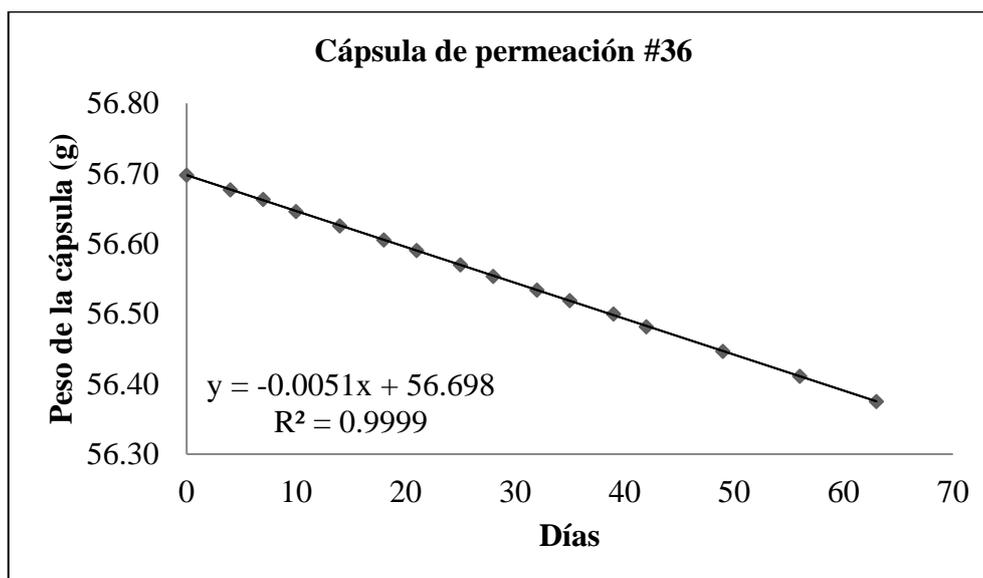
Anexo XI. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 34.



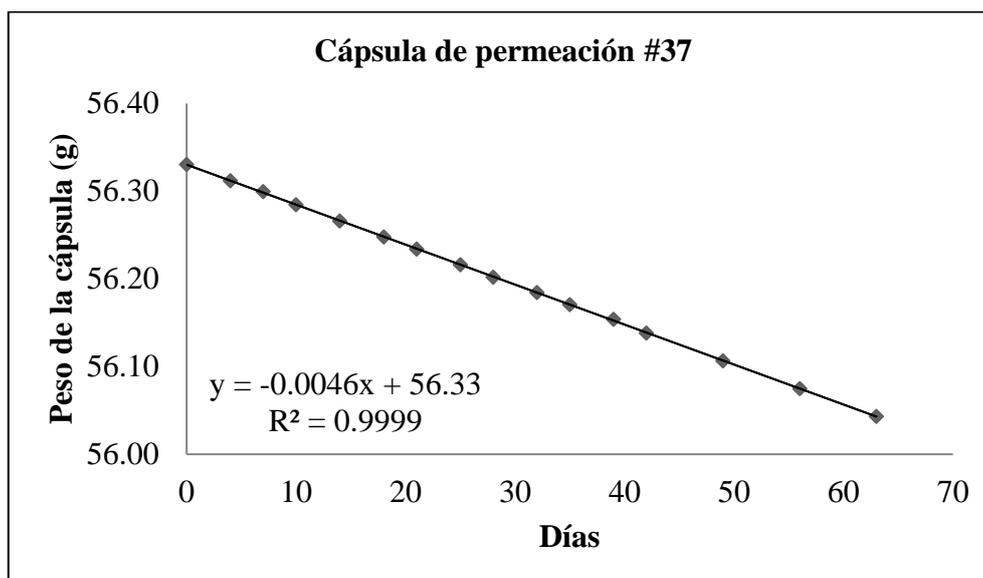
Anexo XII. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 35.



Anexo XIII. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 36.



Anexo XIV. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 37.



Anexo XV. Animales experimentales pastoreando avena en época lluviosa.



Anexo XVI. Animales experimentales pastoreando alfalfa en época lluviosa.



Anexo XVII. Animales experimentales pastoreando avena en época seca.



Anexo XVIII. Animales experimentales pastoreando alfalfa en época seca.



Anexo XIX. Capacitación de medición de metano entérico en el INIA – Remehue.



Anexo XX. Medio para Hohenheim Gas Test - Universidad de Hohenheim.

Componentes	Peso Molecular	Concentración Final	Cantidad
Buffer			
Ammonium bicarbonate	79.1	0.05 M	8.0 g
Sodium bicarbonate	84.0	0.42 M	70.0 g
ddH ₂ O			2000 ml
Volumen Total			2000 ml
Macrominerales			
Sodium dihydrogen Phosphate	142.0	0.040 M	11.4 g
Potassium dihydrogen Phosphate	136.1	0.046 M	12.4 g
Magnesium sulphate 7 x H ₂ O	246.5	0.002	1.2 g
Volumen Total	enrasar con dH ₂ O		2000 ml
Microminerales			
Calcium Chloride 2 x H ₂ O	147.0	0.45 M	6600 mg
Manganese Chloride 4 x H ₂ O	197.9	0.25 M	5000 mg
Cobalt Chloride 6 x H ₂ O	237.9	0.02 M	500 mg
Ferric trichloride 6 x H ₂ O	270.3	0.15 M	4000 mg
Volumen Total	enrasar con dH ₂ O		2000 ml
Resaurzine			
Resazurine		0.40%	400 mg
Total volume			100 ml
Reduction solution			
Sodium sulphite			625 mg
Sodium hydroxide		1 M	4 ml
Volumen Total	enrasar con dH ₂ O		100 ml

Anexo XXI. Concentración de dióxido de titanio (g/g MO) en heces.

Nº Vaca	Época	
	Lluviosa	Seca
110101	0.0047	0.0059
110201	0.0053	0.0071
110402	0.0061	0.0071
110601	0.0064	0.0069
111201	0.0062	0.0067
120602	0.0062	0.0087
120803	0.0062	0.0065
121102	0.0059	0.0080
130105	0.0060	0.0057
130106	0.0075	0.0115
130502	0.0067	0.0090

Anexo XXII. Base de datos de disponibilidad de la pastura.

Avena		Alfalfa		Total	
Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca
3302	2504	2109	1372	2651	1886
3208	2605	2196	1218	2656	1848
3070	2700	2110	1350	2546	1964

Anexo XXIII. Base de datos de digestibilidad de la dieta.

Digestibilidad de la MO (g/kg)	
Época	
Lluviosa	Seca
676	657
678	632
695	608
698	660
700	638
648	639
688	641
669	622
649	637
693	657
686	653

Anexo XXIV. Base de datos de consumo de materia seca.

Consumo							
MS total (kg/vaca/d)		MS avena (kg/vaca/d)		MS alfalfa (kg/vaca/d)		MS concentrado (kg/vaca/d)	
Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca
16.9	12.5	7.3	5.3	8.7	6.3	0.9	0.9
15.1	9.7	6.4	4.0	7.7	4.8	0.9	0.9
13.7	9.0	5.8	3.7	7.0	4.4	0.9	0.9
13.2	10.8	5.6	4.5	6.7	5.4	0.9	0.9
13.7	10.4	5.8	4.3	7.0	5.2	0.9	0.9
11.7	8.1	4.9	3.3	5.9	3.9	0.9	0.9
13.1	10.9	5.6	4.6	6.7	5.5	0.9	0.9
13.0	8.4	5.5	3.4	6.6	4.1	0.9	0.9
12.1	12.3	5.1	5.2	6.1	6.2	0.9	0.9
11.1	6.4	4.6	2.5	5.6	3.0	0.9	0.9
12.1	8.1	5.1	3.3	6.1	3.9	0.9	0.9

Anexo XXV. Base de datos de consumo de ceniza.

Consumo							
Ceniza total (g/vaca/d)		Ceniza avena (g/vaca/d)		Ceniza alfalfa (g/vaca/d)		Ceniza concentrado (g/vaca/d)	
Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca
1,257	848	347	234	857	581	53.1	32.7
1,123	655	308	179	762	443	53.1	32.7
1,021	605	279	164	689	408	53.1	32.7
981	730	267	200	660	497	53.1	32.7
1,020	698	278	191	689	474	53.1	32.7
865	538	234	145	578	360	53.1	32.7
975	737	265	202	656	502	53.1	32.7
964	559	262	151	649	375	53.1	32.7
896	835	243	231	600	572	53.1	32.7
823	422	222	112	548	278	53.1	32.7
897	537	243	145	601	359	53.1	32.7

Anexo XXVI. Base de datos de consumo de proteína.

Consumo							
Proteína total (g/vaca/d)		Proteína avena (g/vaca/d)		Proteína alfalfa (g/vaca/d)		Proteína concentrado (g/vaca/d)	
Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca
3,274	2,013	523	349	2,668	1,521	82.8	143
2,917	1,569	465	267	2,369	1,160	82.8	143
2,648	1,454	420	245	2,144	1,066	82.8	143
2,541	1,742	403	299	2,055	1,301	82.8	143
2,645	1,669	420	285	2,142	1,241	82.8	143
2,234	1,302	353	217	1,798	942	82.8	143
2,525	1,757	400	302	2,042	1,313	82.8	143
2,497	1,351	396	226	2,018	982	82.8	143
2,317	1,983	366	344	1,868	1,496	82.8	143
2,122	1,037	334	167	1,705	727	82.8	143
2,319	1,299	367	216	1,869	940	82.8	143

Anexo XXVII. Base de datos de consumo de FDN.

Consumo							
FDN total (g/vaca/d)		FDN avena (g/vaca/d)		FDN alfalfa (g/vaca/d)		FDN concentrado (g/vaca/d)	
Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca
6,011	4,879	2,735	2,298	3,014	2,293	262	288
5,368	3,790	2,429	1,753	2,677	1,750	262	288
4,883	3,508	2,198	1,612	2,423	1,608	262	288
4,690	4,215	2,107	1,965	2,322	1,962	262	288
4,879	4,034	2,197	1,875	2,421	1,871	262	288
4,137	3,133	1,844	1,424	2,032	1,421	262	288
4,662	4,251	2,093	1,984	2,307	1,980	262	288
4,612	3,253	2,069	1,484	2,281	1,481	262	288
4,287	4,805	1,915	2,261	2,111	2,256	262	288
3,937	2,482	1,748	1,098	1,927	1,096	262	288
4,291	3,126	1,917	1,420	2,112	1,418	262	288

Anexo XXVIII. Base de datos de consumo de EB.

Consumo							
EB total (MJ/vaca/d)		EB avena (MJ/vaca/d)		EB alfalfa (MJ/vaca/d)		EB concentrado (MJ/vaca/d)	
Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca
293	220	122	91.7	155	111	16.0	17.0
262	172	108	69.9	138	84.9	16.0	17.0
239	159	97.9	64.3	125	78.0	16.0	17.0
229	191	93.8	78.4	120	95.2	16.0	17.0
239	183	97.8	74.8	125	90.8	16.0	17.0
203	143	82.1	56.8	105	69.0	16.0	17.0
228	192	93.2	79.1	119	96.0	16.0	17.0
226	148	92.2	59.2	117	71.9	16.0	17.0
210	217	85.3	90.2	109	109	16.0	17.0
193	114	77.9	43.8	99.3	53.2	16.0	17.0
210	142	85.4	56.7	109	68.8	16.0	17.0

Anexo XXIX. Base de datos de consumo de EM.

Consumo							
EM total (MJ/vaca/d)		EM avena (MJ/vaca/d)		EM alfalfa (MJ/vaca/d)		EM concentrado (MJ/vaca/d)	
Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca
170	115	81.5	47.0	79.4	58.5	9.2	10.0
152	90.4	72.4	35.8	70.5	44.6	9.2	10.0
139	83.9	65.5	32.9	63.8	41.0	9.2	10.0
133	100	62.8	40.2	61.2	50.0	9.2	10.0
138	96.0	65.5	38.3	63.8	47.7	9.2	10.0
118	75.3	55.0	29.1	53.5	36.3	9.2	10.0
132	101	62.4	40.5	60.8	50.5	9.2	10.0
131	78.1	61.7	30.3	60.1	37.8	9.2	10.0
122	114	57.1	46.2	55.6	57.5	9.2	10.0
112	60.4	52.1	22.4	50.8	28.0	9.2	10.0
122	75.1	57.1	29.0	55.7	36.2	9.2	10.0

Anexo XXX. Base de datos de producción de leche y leche corregida a energía.

Producción de leche (kg/d)		EMC (kg/d)	
Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca
16.4	15.1	15.3	13.8
16.7	15.2	15.9	14.7
14.8	9.3	15.7	9.3
16.2	11.1	16.2	10.3
11.7	6.5	11.7	6.6
15.9	10.6	14.5	9.3
12.0	8.8	11.7	8.2
9.9	7.9	8.5	7.7
13.5	10.3	11.1	10.0
12.1	10.1	10.7	9.3
11.4	11.5	12.4	10.3

Anexo XXXI. Base de datos de calidad de leche.

Producción de grasa (g/d)		Grasa (%)		ST (%)		SNG (%)	
Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca	Lluviosa	Seca
609	588	3.7	3.9	12.1	11.7	8.4	7.8
652	652	3.9	4.3	12.2	12.3	8.3	7.9
660	416	4.5	4.5	13.4	12.5	9.0	8.0
682	433	4.2	3.9	12.7	11.8	8.5	7.9
499	306	4.3	4.7	12.7	12.6	8.5	7.9
558	380	3.5	3.6	12.0	11.4	8.5	7.8
475	342	4.0	3.9	12.5	11.9	8.6	8.0
317	340	3.2	4.3	11.5	12.2	8.3	7.9
392	452	2.9	4.4	11.1	12.2	8.2	7.8
412	403	3.4	4.0	11.7	11.7	8.3	7.7
482	449	4.2	3.9	14.1	11.4	9.8	7.5

Anexo XXXII. Base de datos I de emisión de metano entérico.

g CH4/d				g CH4/kg CMS				g CH4/kg CMS digestible				g CH4/kg CMO			
Lluviosa		Seca		Lluviosa		Seca		Lluviosa		Seca		Lluviosa		Seca	
269	521	201	337	20.3	39.4	20.7	34.8	29.9	57.8	32.3	54.2	22.0	42.5	22.2	37.3
362	347	331	339	27.3	26.2	34.2	34.9	40.2	38.6	53.3	54.5	29.5	28.4	36.6	37.4
327	388	375	279	24.7	29.4	38.6	28.7	36.4	43.2	60.3	44.8	26.7	31.7	41.4	30.8
368	339	201	224	27.8	25.6	20.7	23.0	40.8	37.7	32.3	36.0	30.0	27.7	22.2	24.7
396	399	185	220	29.9	30.2	19.1	22.7	43.9	44.3	29.8	35.5	32.3	32.6	20.5	24.4
301	286	205	175	22.8	21.6	21.2	18.1	33.5	31.8	33.0	28.2	24.6	23.4	22.7	19.4
247	276	185	339	18.7	20.9	19.1	34.9	27.5	30.7	29.8	54.5	20.2	22.6	20.5	37.5
191	380	197	337	14.4	28.8	20.3	34.8	21.2	42.3	31.7	54.2	15.6	31.1	21.8	37.3
271	325	242	365	20.5	24.6	24.9	37.6	30.1	36.1	38.9	58.7	22.2	26.5	26.7	40.3
316	252	175	319	23.9	19.0	18.1	32.9	35.1	28.0	28.2	51.4	25.8	20.5	19.4	35.3
347	281	271	240	26.3	21.2	27.9	24.8	38.6	31.2	43.6	38.6	28.4	22.9	29.9	26.5
329	281	330	250	24.9	21.2	34.0	25.8	36.6	31.2	53.0	40.2	26.9	22.9	36.4	27.6
261	436	264	361	19.7	32.9	27.2	37.2	29.0	48.4	42.4	58.1	21.3	35.6	29.2	39.9
318	362	256	274	24.1	27.3	26.4	28.3	35.4	40.2	41.2	44.1	26.0	29.5	28.3	30.3
386	346	270	388	29.2	26.2	27.9	40.0	42.9	38.5	43.5	62.4	31.5	28.3	29.9	42.9
371	334	267	291	28.1	25.3	27.5	30.0	41.3	37.2	43.0	46.8	30.3	27.3	29.5	32.2
413	286	168	178	31.2	21.6	17.4	18.3	45.9	31.8	27.1	28.6	33.7	23.4	18.6	19.7
557	231	273	213	42.1	17.5	28.1	21.9	61.9	25.7	43.9	34.2	45.5	18.9	30.1	23.5
355	289	278	337	26.9	21.8	28.6	34.8	39.5	32.1	44.7	54.3	29.0	23.6	30.7	37.3
268	279	182	254	20.2	21.1	18.7	26.2	29.7	31.0	29.2	40.8	21.9	22.8	20.1	28.0
299	326	199	222	22.6	24.7	20.5	22.9	33.2	36.2	32.0	35.7	24.4	26.6	22.0	24.6
265	352	217	312	20.1	26.6	22.4	32.2	29.5	39.1	35.0	50.2	21.7	28.7	24.0	34.5
212	378	290	322	16.0	28.5	29.9	33.2	23.5	41.9	46.7	51.8	17.3	30.8	32.1	35.6
303	357	362	372	22.9	27.0	37.4	38.4	33.7	39.6	58.3	59.9	24.8	29.1	40.1	41.2
319	239	315	257	24.1	18.0	32.5	26.5	35.5	26.5	50.7	41.3	26.1	19.5	34.9	28.4
323	234	315	277	24.4	17.7	32.5	28.5	35.9	26.0	50.7	44.5	26.4	19.1	34.8	30.6
192	349	346	292	14.5	26.4	35.6	30.1	21.3	38.8	55.6	47.0	15.6	28.5	38.2	32.3
251		387		19.0		39.9		27.9		62.3		20.5		42.8	

Anexo XXXIII. Base de datos II de emisión de metano entérico.

g CH4/kg CMO digestible				g CH4/kg ECM				g CH4/kg CFDN				Ym (%)			
Lluviosa		Seca		Lluviosa		Seca		Lluviosa		Seca		Lluviosa		Seca	
32.3	62.5	34.6	58.1	20.6	39.9	20.2	33.9	57.2	110.7	53.3	89.4	6.5	12.6	6.5	11.0
43.4	41.7	57.1	58.4	27.7	26.6	33.3	34.0	76.9	73.8	87.8	89.8	8.7	8.4	10.8	11.0
39.3	46.6	64.6	48.1	25.1	29.7	37.7	28.0	69.6	82.5	99.4	73.9	7.9	9.4	12.2	9.1
44.1	40.7	34.6	38.6	28.1	26.0	20.2	22.5	78.1	72.1	53.3	59.3	8.9	8.2	6.5	7.3
47.5	47.9	32.0	38.0	30.3	30.6	18.6	22.1	84.1	84.8	49.1	58.4	9.6	9.6	6.0	7.2
36.2	34.3	35.4	30.3	23.1	21.9	20.6	17.6	64.0	60.8	54.4	46.5	7.3	6.9	6.7	5.7
29.7	33.2	31.9	58.5	18.9	21.2	18.6	34.1	52.6	58.7	49.1	89.9	6.0	6.7	6.0	11.0
22.9	45.7	34.0	58.1	14.6	29.1	19.8	33.9	40.5	80.9	52.3	89.4	4.6	9.2	6.4	11.0
32.6	39.0	41.7	62.9	20.8	24.9	24.3	36.7	57.7	69.1	64.1	96.7	6.6	7.9	7.9	11.9
38.0	30.2	30.2	55.1	24.2	19.3	17.6	32.1	67.2	53.5	46.5	84.7	7.6	6.1	5.7	10.4
41.7	33.7	46.7	41.4	26.6	21.5	27.2	24.1	73.8	59.7	71.8	63.7	8.4	6.8	8.8	7.8
39.5	33.7	56.8	43.1	25.2	21.5	33.1	25.1	69.9	59.7	87.4	66.3	8.0	6.8	10.7	8.1
31.4	52.3	45.5	62.2	20.0	33.4	26.5	36.3	55.5	92.6	70.0	95.7	6.3	10.5	8.6	11.7
38.2	43.4	44.1	47.3	24.4	27.7	25.7	27.5	67.7	76.9	67.8	72.7	7.7	8.7	8.3	8.9
46.3	41.6	46.6	66.9	29.5	26.5	27.2	39.0	82.0	73.6	71.7	102.9	9.3	8.4	8.8	12.6
44.6	40.1	46.1	50.2	28.4	25.6	26.8	29.3	78.9	71.1	70.8	77.2	9.0	8.1	8.7	9.5
49.6	34.3	29.1	30.7	31.6	21.9	16.9	17.9	87.8	60.8	44.7	47.2	10.0	6.9	5.5	5.8
66.9	27.7	47.0	36.7	42.7	17.7	27.4	21.4	118.5	49.1	72.3	56.4	13.5	5.6	8.9	6.9
42.7	34.7	47.9	58.1	27.2	22.1	27.9	33.9	75.5	61.4	73.6	89.4	8.6	7.0	9.0	11.0
32.1	33.5	31.3	43.8	20.5	21.4	18.3	25.5	56.9	59.3	48.2	67.3	6.5	6.7	5.9	8.3
35.9	39.1	34.3	38.3	22.9	25.0	20.0	22.3	63.5	69.3	52.7	58.9	7.2	7.9	6.5	7.2
31.8	42.2	37.5	53.8	20.3	26.9	21.9	31.3	56.4	74.7	57.7	82.7	6.4	8.5	7.1	10.2
25.4	45.3	50.0	55.5	16.2	28.9	29.2	32.3	45.0	80.2	76.9	85.3	5.1	9.1	9.4	10.5
36.4	42.8	62.5	64.2	23.2	27.3	36.4	37.4	64.5	75.8	96.1	98.8	7.3	8.6	11.8	12.1
38.3	28.6	54.4	44.3	24.4	18.3	31.7	25.8	67.8	50.7	83.6	68.1	7.7	5.8	10.3	8.4
38.8	28.1	54.3	47.7	24.8	17.9	31.7	27.8	68.7	49.7	83.5	73.4	7.8	5.7	10.3	9.0
23.0	41.9	59.6	50.4	14.7	26.7	34.7	29.4	40.7	74.2	91.7	77.5	4.6	8.4	11.3	9.5
30.2		66.8		19.2		38.9		53.4		102.7		6.1		12.6	