

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**



**“EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO DE VACAS EN LACTACIÓN
EN PASTIZALES ALTOANDINOS EN ESTACIÓN LLUVIOSA Y
SECA”**

Presentada por:

JORGE LUIS MEDRANO TINOCO

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

LIMA- PERÚ

2019

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN NUTRICIÓN**

**“EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO DE VACAS EN LACTACIÓN
EN PASTIZALES ALTOANDINOS EN ESTACIÓN LLUVIOSA Y
SECA”**

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

Presentada por:

JORGE LUIS MEDRANO TINOCO

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ph.D. Mariano Echevarría Rojas

PRESIDENTE

Ph.D. Carlos Gómez Bravo

PATROCINADOR

Mg.Sc. Víctor Hidalgo Lozano

MIEMBRO

Ph.D. Javier Ñaupari Vásquez

MIEMBRO

DEDICATORIA

*A mi mamá Marcela que me enseñó el
valor de la independencia, a mi hermano
Pedro por trabajar a mi lado en todo
momento y a mi enamorada Norah por
acompañarme en los momentos más
decisivos.*

AGRADECIMIENTOS

Al programa de becas CIENCIACTIVA CONCYTEC, Convenio de Gestión N° 183-2015 FONDECYT por la 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 mi estancia en la Universidad de Hehenheim, Alemania.

Al Ph.D. Carlos Gómez Bravo asesor de la presente tesis por la confianza y orientación.

Dra. Uta Dickhoefer por su amabilidad y apoyo durante mi estadía en Alemania.

Al Dr. Sergio Abarca, Dr. Roberto Soto y Dr. Frank por la capacitación en el CATIE sobre la técnica del trazador de SF₆ en vacunos de trópico.

Al Lic. Juan José Alegría por el apoyo en la identificación de pastizales altoandinos.

A Mg. Sc. José Haro por la agilidad en las gestiones.

A los socios de la Cooperativa Agraria San Francisco de Chichausiri por la hospitalidad y facilidades, al Presidente Pablo por las facilidades logísticas, Ing. German Yauri por su valioso apoyo técnico y en especial a la Sra. Norma y Sra. Bety por su gran apoyo incondicional.

A mi madre Marcela y hermano Pedro por confiar y apoyarme en todo momento.

A mi enamorada Norah por su ayuda incondicional en todo momento.

A mi colega Víctor Alvarado por su aporte valioso durante la toma de muestras y evaluación de las mismas.

ÍNDICE GENERAL

	Pag.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1 Emisiones de gases de efecto invernadero en el Perú	2
2.1.1 Emisiones de metano entérico en el Perú	3
2.1.2 Metodologías para elaborar inventarios de metano entérico según el IPCC	5
2.2 Importancia del metano como gas de efecto invernadero	6
2.2.1 Metano en la ganadería	6
2.2.2 Metanogénesis	7
2.3 Factores que influyen en la emisión de metano entérico	8
2.3.1 Consumo de alimento	8
2.3.2 Composición química de la dieta	9
2.4 Técnicas para cuantificar el metano entérico	11
2.4.1 Cámaras respiratorias	11
2.4.2 Técnica del gas trazador hexafluoruro de azufre	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS	14
3.1 Área de estudio	14
3.2 Animales	14
3.3 Biomasa disponible y valor nutritivo del pastizal	15
3.4 Consumo	18
3.5 Producción de leche	21
3.6 Emisión de metano entérico	21
3.7 Análisis estadístico	28
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
4.1 Disponibilidad y composición química del pastizal	30
4.2 Consumo y Producción de leche	33
4.3 Emisión de metano entérico	36
V. CONCLUSIONES	41
VI. RECOMENDACIONES	42
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
VIII. ANEXOS	55

ÍNDICE DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1: Resumen de emisiones de gases de efecto invernadero del Perú por sectores.	3
Cuadro 2: Emisiones de gases de efecto invernadero del sector Agricultura.....	4
Cuadro 3: Información de tubos de permeación.....	23
Cuadro 4: Disponibilidad y composición química del pastizal altoandino en estación lluviosa y seca.	31
Cuadro 5: Consumo y digestibilidad de vacas en lactación en estación lluviosa y seca en pastizales altoandinos.....	34
Cuadro 6: Producción y composición de leche de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.....	35
Cuadro 7: Promedio de emisión de metano entérico de vacas en lactación en pastizales altoandinos en la estación lluviosa y seca.	37

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1: Metabolismo de carbohidratos en el rumen y metanogénesis.....	7
Figura 2: Cápsulas (1 ml) luego de agregar H ₂ O ₂ (0.1 ml al 30%).	19
Figura 3: Componentes de la línea de colección de muestras de gases.....	24
Figura 4: Caníster en forma de yugo.	25
Figura 5: Recambio de caníster.	26

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pag.
Anexo 1: Características de los animales experimentales durante la estación lluviosa .	55
Anexo 2: Características de los animales experimentales durante la estación seca	55
Anexo 3: Emisiones de CH ₄ entérico (g/vaca/día) de vacunos en lactación en pastizales altoandinos en la estación seca.	56
Anexo 4: Emisiones de CH ₄ entérico (g/vaca/día) de vacunos en lactación en pastizales altoandinos en la estación lluviosa.	57
Anexo 5: Medio para la prueba de producción de gas del laboratorio del Instituto de Nutrición Animal de la Universidad Hohenheim.	58
Anexo 6: Concentración de TiO ₂ (gTiO ₂ /gMO heces) de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.	59
Anexo 7: Dosis de TiO ₂ (g/vaca/día) a vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.....	59
Anexo 8: Digestibilidad de la MO (%) de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.....	60
Anexo 9: Consumo de materia orgánica (KgMO/vaca/día) de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.....	60
Anexo 10: Consumo de materia seca (KgMS/vaca/día) de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.....	61
Anexo 11: Consumo de materia seca expresado como porcentaje del PV (%PV) de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca. ...	61
Anexo 12: Consumo de FDN (kg/vaca/día) de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.	62
Anexo 13: Consumo de Proteína Cruda (kg PC/vaca/día) de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.....	62
Anexo 14: Producción de leche (kg) de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.....	63
Anexo 15: Jeringas de incubación en baño María (39°C)-Prueba de la producción de gases de la Universidad de Hohenheim.	63
Anexo 16: Directrices del IPCC (2006) para el nivel 2.....	64
Anexo 17: Prueba de T pareada para el consumo de materia seca (CMS).....	65
Anexo 18: Prueba de T pareada para el CMS como %PV.	65

Anexo 19: Prueba de T pareada para el consumo de materia orgánica (CMO).	66
Anexo 20: Prueba de T pareada para el consumo de proteína cruda (CPC).	66
Anexo 21: Prueba de T pareada para el consumo de FDN (CFDN).	67
Anexo 22: Prueba de T pareada para la digestibilidad.	67
Anexo 23: Prueba de T pareada para la producción de leche (kg).	68
Anexo 24: Prueba de T pareada para la producción de grasa (g/día).	68
Anexo 25: Prueba de T pareada para el % de grasa (%).	69
Anexo 26: Prueba de T pareada para solidos totales (%).	69
Anexo 27: Prueba de T pareada para solidos no grasos (%).	70
Anexo 28: Prueba de T pareada para LCE (kg).	70
Anexo 29: Prueba de T pareada para emisiones de metano entérico (g/vaca/día).	71
Anexo 30: Prueba de T pareada para emisiones de metano entérico por unidad de PV (g/kgPV).	71
Anexo 31: Prueba de T pareada para emisiones de metano entérico por unidad de consumo de MS consumida (g/kgMS).	72
Anexo 32: Prueba de T pareada para emisiones de metano entérico por unidad de consumo de MO consumida (g/kgMO).	72
Anexo 33: Prueba de T pareada para emisiones de metano entérico por unidad de consumo de MS digestible (g/kgMSd).	73
Anexo 34: Prueba de T pareada para emisiones de metano entérico por unidad de consumo de MO digestible (g/kgMOd).	73
Anexo 35: Prueba de T pareada para emisiones de metano entérico por unidad de FDN (g/kg FDN).	74
Anexo 36: Prueba de T pareada para emisiones de metano entérico por unidad de LCE (g/kgLCE).	74
Anexo 37: Prueba de T pareada para Y _m (%).	75

RESUMEN

Las emisiones de metano (CH₄) entérico de 12 vacas en lactación bajo un sistema de pastoreo continuo y alimentados con pastizales altoandinos fueron medidas en dos estaciones del año (lluviosa/Abril y seca/Agosto). La técnica del gas trazador hexafluoruro de azufre fue empleada para medir las emisiones de CH₄ en ambas estaciones durante siete días consecutivos. El consumo de materia seca (CMS) se determinó a partir de estimar la producción de heces usando Dióxido de Titanio (TiO₂) como indicador externo y la digestibilidad de la materia orgánica (DMO) se estimó con el método del nitrógeno fecal. Se empleó el test de datos pareados para comparar entre estaciones. El contenido de proteína cruda (PC) del pastizal fue mayor en la estación lluviosa (109.9 g/KgMS) que en la estación seca (72.4 g/Kg MS) y además presentó ligeramente mayor contenido de FDN (676.9 vs 660 g/KgMS). La DMO fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en la estación lluviosa (626 g/Kg) que en la estación seca (598 g/Kg). El CMS fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en la estación seca (10.4 kg) que en la estación lluviosa (9.3 Kg). La emisión de CH₄ entérico (g/vaca/día) fue mayor ($P < 0.05$) en la estación seca (257 g) que en la estación lluviosa (213 g). Sin embargo, no hubo diferencias significativas en la emisión de CH₄ por unidad de consumo (23.2 vs 25 g CH₄/kg MS) entre ambas estaciones, pero cuando los valores se expresaron por unidad de consumo digerido, la emisión en la estación seca (46g CH₄/kg dMS) fue mayor ($p < 0.05$) que en la estación lluviosa (40g CH₄/kg dMS). La emisión de CH₄ por unidad de leche corregida a energía (LCE) fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en la estación seca (131g CH₄/kg LCE) que en la estación lluviosa (69g CH₄/kg LCE). El factor de conversión de energía bruta a metano (Y_m) en la estación lluviosa (7.4%) y seca (8%) no presentaron diferencias significativas.

Palabras claves: metano entérico, vacas lecheras, pastizal altoandino.

ABSTRACT

Enteric methane (CH₄) emissions of 12 lactating cows under continuous grazing system and fed highlands Peruvian grassland were measured in two seasons (rainy / April and dry / August). The sulfur hexafluoride tracer gas technique was used to measure CH₄ emissions for seven consecutive days and at both seasons. Dry matter intake (DMI) was estimated from fecal production estimated using Titanium Dioxide (TiO₂) as external indicator and organic matter digestibility (OMD) was estimated with the fecal nitrogen method. The paired data test was used to calculate the differences between both seasons. Crude protein content (CP) of highlands Peruvian grassland was higher in rainy season (109.9 g / KgDM) than in dry season (72.4 g / Kg DM) and also higher in NDF content (676.9 vs 660 g / KgDM). OMD was significantly higher (P <0.05) in rainy season (626 g / Kg) than in dry season (598 g / Kg). DMI was significantly higher (P <0.05) in dry season (10.4 kg) than in rainy season (9.3 Kg). Enteric CH₄ emissions (g / cow / day) was higher (P <0.05) in dry season (257 g) than in rainy season (213 g). However, there were no significant differences in CH₄ emission per unit of intake (23.2 vs 25 g CH₄ / kg DM) but when the values were expressed per unit of digested intake (g CH₄ / kg dDM), emissions in dry season (46g CH₄ / kg dDM) was higher (p <0.05) than in rainy season (40g CH₄ / kg dDM). Emissions of CH₄ per unit of energy corrected milk (ECM) was significantly higher (p <0.05) in dry season (131g CH₄ / kg ECM) than in rainy season (69g CH₄ / kg ECM). Methane yield (Y_m) in the rainy season (7.4%) and dry season (8%) did not show significant differences.

Keys word: enteric methane, dairy cows, high Andean grasslands.

I. INTRODUCCIÓN

El Perú, como parte de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático, ratificó el protocolo de Kioto y su compromiso de estabilizar y reducir sus emisiones de gases de efecto invernadero. Según el último Inventario de Gases de Efecto Invernadero (INGEI) elaborado por el Ministerio del Ambiente, el Perú emite 171 millones de toneladas de CO₂eq, de los cuales, el sector agricultura es responsable del 15 por ciento; siendo el 41 por ciento de éste representado por la fermentación entérica. El metano es el principal producto de la fermentación entérica de animales rumiantes. La metanogénesis es un proceso metabólico microbiano que se desarrolla de manera natural en rumiantes permitiendo mantener la homeostasis ácido-base y asegurar la disponibilidad de transportadores de hidrógeno para que la fermentación microbiana continúe con normalidad. No obstante, a nivel nutricional representa una ineficiencia energética para el ganado.

El INGEI fue elaborado basado en el nivel dos de las directrices propuestas por el Panel de Expertos sobre el Cambio Climático, donde se estimaron y asumieron valores que podrían diferir de los sistemas ganaderos altoandinos y generar incertidumbre de los actuales inventarios. Por lo tanto, generar información con mayor precisión sobre emisiones de los sistemas ganaderos prevalentes del país es una de las acciones que permitirá establecer estrategias de mitigación más certeras. La producción de vacunos lecheros en base a pastizales altoandinos es uno de los sistemas prevalentes en la ganadería nacional. Sin embargo, no existen estudios de metano entérico en vacunos con una alimentación exclusiva de pastizales. Además, el metano no solo está asociado al cambio climático, sino que también pone en cuestión la sostenibilidad de la actividad pecuaria y por ende a la seguridad alimentaria. Por lo tanto, el objetivo general del presente estudio es medir las emisiones de metano entérico de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Emisiones de gases de efecto invernadero en el Perú

Las emisiones antropogénicas de dióxido de carbono (CO₂) son responsables del calentamiento de la atmósfera de la Tierra en un efecto llamado efecto invernadero. La existencia de este fenómeno fue postulada por primera vez por Arrhenius en 1896 (Kessel 2000). La hipótesis señala que, existen gases específicos en la atmósfera o también llamados gases de efecto invernadero (GEI), como el vapor de agua, CO₂, metano (CH₄), dióxido de nitrógeno (NO₂), ozono (O₃) y los hidrocarburos halogenados que permiten el paso de radiaciones solares de onda corta pero no de onda larga. Estas ondas reflejadas retornan hacia la superficie de la tierra manteniendo el calor dentro de la atmósfera (IPCC, 2014). Gracias a este fenómeno natural la temperatura de atmosférica de la Tierra es de 15°C, pero con su ausencia la temperatura sería -18°C (Kessel 2000). Sin embargo, en los últimos 100 años la temperatura promedio global se ha incrementado en 0.5 °C y si no frenamos la emisión de los GEI en los próximos 100 años tendremos un incremento de 2.5°C (Jastrow *et al.* 1991). Las consecuencias de estos cambios ya son una realidad y existen múltiples eventos que han demostrado que si no generamos conciencia en la humanidad no tendremos un futuro promisorio (Hartter *et al.* 2018). El cambio climático y sus efectos adversos son una preocupación de toda la humanidad. Para disminuir el impacto de este fenómeno y plantear estrategias de mitigación y adaptación a nivel global, los países miembros de La Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC) se comprometieron a reportar y actualizar sus inventarios de gases de efecto invernadero para generar estrategias de mitigación (IPCC 1996).

El Perú forma parte de la CMNUCC desde 1992 y ha confirmado oficialmente su compromiso como país de contribuir al objetivo de dicha Convención de “estabilizar la concentración de gases de efecto invernadero en la atmósfera y evitar llegar a un nivel de interferencia antropogénica peligrosa” e incluso se comprometió en reducir sus emisiones en un 30% hasta el año 2030 (MINAM 2016). No obstante, el Perú es un país de bajas emisiones per cápita y totales, con un porcentaje de participación mundial de solo 0.3%

(171 Gg CO₂eq) sobre el total de emisiones, de las cuales aproximadamente la mitad se originan en el sector Uso del Suelo, Cambio de Uso del Suelo y Silvicultura (USCUSS) (Cuadro 1) (MINAM 2016). Por otra parte, el Perú presenta hasta siete de las nueve características reconocidas por la CMNUCC para calificar a un país como “particularmente vulnerable”, características que se ven enervadas por los procesos de origen antropogénico que causan degradación de ecosistemas y contaminación ambiental. Además, el país debe enfrentar diversas amenazas de origen hidro-meteorológico, como lo indican las emergencias a nivel nacional, que en un 72% tienen relación a fenómenos de esta naturaleza (sequías y lluvias excepcionales, inundaciones, heladas, entre otros) (MINAM 2015).

Cuadro 1: Resumen de emisiones de gases de efecto invernadero del Perú por sectores.

Sectores	Emisiones GEI 2012 (Gg CO ₂ eq)	Participación (%)
Energía	44,637.81	26.06%
Procesos Industriales	6,063.54	3.54%
Agricultura	26,043.68	15.20%
Uso de suelo, cambio de uso de suelo y silvicultura	86,741.95	50.63%
Desechos	7,822.59	4.57%
Total	171,309.57	100.00%

Fuente: MINAM 2016

2.1.1 Emisiones de metano entérico en el Perú

En el último Inventario Nacional de Gases de Efecto Invernadero (INGEI), elaborado por el Ministerio del Ambiente (MINAM 2016), la fermentación entérica es responsable del 41 por ciento de GEI emitido por el sector agricultura (Cuadro 2). El factor de emisión (FE) promedio de vacas lecheras es 76.78 kg CH₄/cabeza/año a nivel nacional. En particular, en el departamento de Junín se consideró un FE de 71.7 kg CH₄/cabeza/año, siendo los departamentos de Cajamarca y Arequipa con 78.24 y 94.39 kg CH₄/cabeza/año respectivamente (MINAM 2016). No obstante, estos valores fueron calculados basados en las directrices el Grupo Intergubernamental de expertos sobre el Cambio Climático (IPCC, por sus siglas en inglés) con el nivel dos, asumiendo un valor del seis por ciento de conversión de energía bruta a CH₄ (MINAM 2016). En el Perú la ganadería bovina esta principalmente representada por el ganado criollo (63.9%) (INEI 2013). Sin embargo, no se

precisa el grado de cruzamiento con la raza Brown Swiss. Teniendo en cuenta que la ganadería altoandina predominantemente tiene una base alimenticia en pastizales altoandinos y que la calidad de los mismos se encuentra seriamente afectados por efectos del sobrepastoreo y el clima adverso probablemente el valor de seis por ciento sea diferente de la realidad.

En el Perú solo existe un estudio sobre emisiones de CH₄ entérico, realizado en Cuzco (Centro experimental La Raya) a 4,200 m.s.n.m, empleando vacas Brown Swiss cruzadas con Criollo al pastoreo con un sistema de alimentación basado en 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). Estos valores son ampliamente superiores a lo reportado por el MINAM (2016) (196 gCH₄/vaca/d), no obstante, este estudio no fue realizado exclusivamente con pastizales, sino que suplementaron con 25 kg de ensilado fresco de avena a todos sus tratamientos.

Cuadro 2: Emisiones de gases de efecto invernadero del sector Agricultura.

Categorías	Emisiones GEI 2012 (GgCO ₂ e)	Participación (%)
Fermentación entérica	10,735	41
Manejo de estiércol	1,319	5
Cultivos de arroz	1,171	4
Suelos Agrícolas	12,196	47
Quema de sabanas	366	1
Quema de residuos agrícolas	257	1
Total	26,043.68	100.00

Fuente: MINAM 2016

La emisión de CH₄ entérico está relacionado directamente al CMS y a la calidad de la dieta (Blaxter y Clapperton 1965). Richmond *et al.* (2015) reportaron una alta correlación entre el contenido de FDN y el CMS y además existe una relación directa entre el CMS y la emisión de CH₄. En este segundo caso, los pastizales altoandinos suelen caracterizarse por su alto contenido de FDN tal y como lo reportó Rodríguez (1984) donde encontró valores desde 63.6 por ciento de FDN en la especie *Stipa Brachyphylla* hasta 75.2 por ciento de FDN en *Festuca dolichophylla*, lo cual supondría mayores emisiones de CH₄.

2.1.2 Metodologías para elaborar inventarios de metano entérico según el IPCC

El IPCC señala que para estimar la cantidad de emisiones provenientes de la fermentación entérica requiere tres pasos básicos: primero dividir el ganado en subgrupos y caracterizar cada subgrupo (IPCC 2006). Segundo, estimar el factor de emisión para cada subgrupo de acuerdo al nivel de detalle y tercero, multiplicar los factores de emisión por la cantidad de animales de cada subgrupo (IPCC 1997). La obtención de los factores de emisión se puede llevar a cabo con distintos niveles de detalle y complejidad (Bannink *et al.* 2010). Para ello el IPCC (2006) propone tres niveles.

El nivel uno 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). Este nivel es apropiado para la mayoría de las especies animales en países en donde la fermentación entérica no sea una categoría de fuente principal o donde no se disponga de datos de caracterización mejorados (IPCC 1997). Sin embargo, Ellis *et al.* (2010) demostraron que usar factores de emisión fijos en modelos de granjas puede introducir un error sustancial en los inventarios de gases de efecto invernadero. Tal información puede conducir a recomendaciones de mitigación incorrectas (Ellis *et al.* 2010). Por ello, para estimaciones más precisas de CH₄ debería emplearse el nivel dos o tres propuesto por el IPCC de tal manera que la información pueda ser útil para plantear estrategias de mitigación (Negussie *et al.* 2017).

El nivel dos requiere estimar el factor de emisión a partir de estimar la ingesta de energía bruta y el uso factores de conversión de energía bruta a CH₄ para categorías específicas de ganado (Clark 2002). La estimación de la ingesta de energía bruta está basada en la energía neta de lactación para mantenimiento, producción y además la energía neta de lactación de la dieta (Bannink *et al.* 2010). Este nivel debe utilizarse si la fermentación entérica es una categoría de fuente principal para una gran parte de las emisiones totales del país (IPCC 2006).

El nivel tres es un método dinámico y generalmente se derivan de experimentaciones locales (Bannink *et al.* 2010). Además, implica el desarrollo de modelos matemáticos mecanísticos en donde se considere la composición de la dieta en detalle, el resultado de la concentración de productos de fermentación, las variaciones estacionales de la población animal, de la calidad y disponibilidad de alimentos, y las posibles estrategias de mitigación (IPCC 2006).

Bannink *et al.* (2010) fueron los primeros en elaborar un modelo con el nivel tres recomendados por el IPCC. Este modelo incluye fuentes de hidrógeno (p. e.: producción de acetato y butirato, crecimiento microbiano como fuente de nitrógeno), también fuentes de propionato y resto de ácidos grasos volátiles (Bannink *et al.* 2010). Además, incluye el alcance de las estrategias de mitigación sobre los factores de emisión y los factores de conversión de energía a CH₄ (Bannink *et al.* 2010).

2.2 Importancia del metano como gas de efecto invernadero

2.2.1 Metano en la ganadería

En los últimos 300 años, la concentración de metano (CH₄) se ha incrementado hasta en 2.5 veces y la ganadería ha jugado un rol importante debido a su gran crecimiento en los últimos años (Lassey 2008). La fermentación entérica es responsable del 17 por ciento de las emisiones globales de CH₄ emitidos a la atmósfera (Knapp *et al.* 2014). Se estima que las emisiones atribuidas al ganado lechero contribuyen en cuatro por ciento de las emisiones antropogénicas totales, ello incluye la producción de leche, el procesamiento de productos lácteos, actividades de transporte, la producción de carne producto del ganado adulto y animales de descarte (FAO 2010). Leng y Kunju (1993) estimaron que el 75% de las emisiones globales de rumiantes provienen de rumiantes al pastoreo con baja calidad de forrajes.

El CH₄ es el principal GEI que proviene de la ganadería producto de la fermentación entérica y en menor proporción de la gestión del estiércol del ganado (Lassey *et al.* 2007). El CH₄ se sintetiza en ambientes estrictamente anaerobios como producto de la degradación de la materia orgánica tanto en el rumen de animales como en pilas de estiércol (Deppenmeier 2002). El CH₄ entérico representa una ineficiencia energética para el ganado, ya que, entre dos y 12 por ciento de la energía bruta ingerida a través de la dieta se pierde como CH₄ (Johnson y Johnson 1995). La ganadería en condiciones estabuladas con suplementación de concentrados pierde aproximadamente el 6.5 por ciento (IPCC 2006) de la energía consumida como CH₄, en cambio, el ganado en pastoreo con un pasto de 60-80% de digestibilidad pierde hasta el ocho por ciento de la energía consumida (Lassey 2008).

La ganadería emite dióxido de carbono (CO₂), CH₄ y óxido nitroso (N₂O), sin embargo, el CH₄ y N₂O tienen 28 y 310 veces el poder de calentamiento del CO₂ (IPCC 2014). No obstante, el CH₄ es considerado como el gas clave para reducir las emisiones de GEI del

sistema ganadero frente al cambio climático (Knapp *et al.* 2014). Este enfoque no solo es amigable con el medio ambiente, sino que también incrementa la eficiencia y, por lo tanto, la rentabilidad del sistema ganadero (Liu 2017).

2.2.2 Metanogénesis

El rumen es un ecosistema anaerobio donde ocurre la degradación de la fibra favorecida por la actividad microbiana (bacterias, protozoos, hongos, y archaeas) (Blaxter y Clapperton 1965). Dentro de ellos se encuentran microorganismos llamados metanogénicos y protozoos que reducen el CO₂ a CH₄ a partir del CO₂ y protones (H⁺) (Figura 1) (Ellis *et al.* 2007). Durante la oxidación de azúcares el NAD⁺ es reducido a NADH el cual debe de ser oxidado nuevamente en la forma de NAD⁺ para que la fermentación continúe (McAllister y Newbold 2008). Estos microorganismos también permiten mantener la homeostasis ácido-base del rumen, permitiendo remover H⁺, mantener la eficiencia energética y mantener el pH en un rango estrecho para asegurar la salud del rumen (Dukes *et al.* 1977, citado por Demarchi *et al.* 2016).

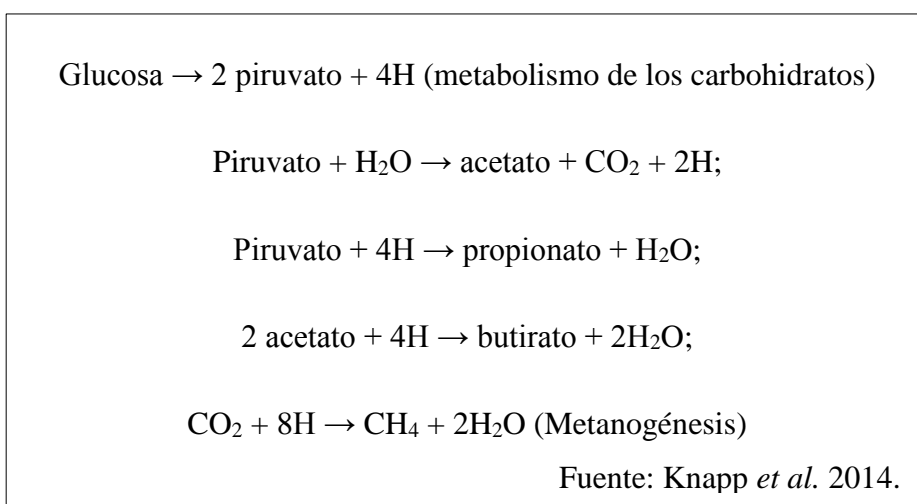


Figura 1: Metabolismo de carbohidratos en el rumen y metanogénesis.

La mayor producción de acetato favorece el incremento de la concentración de H⁺ en el medio ruminal. En el rumen de un vacuno saludable en promedio la producción de ácidos grasos sigue la siguiente relación (ácido acético (55mmol/L), ácido propiónico (20 mmol/L) y ácido butírico (10 mmol/L)), es decir, la producción de ácido acético generalmente esta favorecida y es por ello que una de las grandes tendencias en cuanto a estrategias de mitigación es reducir la proporción de ácido acético (Knapp *et al.* 2014).

Morgavi *et al.* (2010) encontraron una correlación positiva entre la producción de CH₄ y la población de protozoos. Sin embargo, varios estudios se han centrado en reducir su población con el enfoque llamado “defaunación” debido a que consideran que los protozoos no son tan indispensables para el metabolismo ruminal (Vargas *et al.* 2012). También se ha encontrado que los nitratos y sulfatos en la dosis adecuada actúan como sumideros de H⁺ sin afectar al metabolismo ruminal (Knapp *et al.* 2014; Van Zijderveld *et al.* 2010).

2.3 Factores que influyen en la emisión de metano entérico

Se han identificado varios factores que podrían afectar la emisión de CH₄. Sin embargo, la mayoría de los investigadores concuerdan en que el nivel de consumo y la composición química de la dieta son los factores más importantes (Blaxter y Clapperton 1965; Jonker *et al.* 2017). La capacidad de carga, fertilización de los pastos, frecuencia de alimentación, suplementación e incluso la estabulación de los animales intrínsecamente alteran el nivel de consumo o la composición química de la dieta (Wang *et al.* 2015; Pinares-Patiño *et al.* 2007; Dall-Orsoletta *et al.* 2016). Últimamente, las investigaciones en mitigación de CH₄ han documentado que el factor genético también juega un rol importante en las emisiones de CH₄, es decir, animales más eficientes emiten menos CH₄, aunque aún no es algo concluyente existen indicios de que el mejoramiento genético podría reducir en un 30% las emisiones de CH₄ (Knapp *et al.* 2014). Por otro lado, existen muchos estudios de mitigación que han demostrado que la presencia de aceites esenciales o factores anti nutricionales como taninos o gosispol en dosis adecuadas pueden reducir hasta en 15% las emisiones de CH₄ (Tomkins *et al.* 2015). También, ciertos estudios han reportado que existen factores intrínsecos del animal, como la edad y el estado fisiológico que afectan a la emisión de CH₄, pero sus resultados aún siguen mostrando que el consumo de materia seca y la composición química de la dieta son más influyentes en las emisiones de CH₄ (Ramírez-Restrepo *et al.* 2015; Anderson *et al.* 1987).

2.3.1 Consumo de alimento

El consumo de materia seca (CMS) es el principal factor que determina la emisión de CH₄ (Pinares-Patiño *et al.* 2007; Richmond *et al.* 2015). Generalmente, cuando se incrementa el CMS disminuye la emisión de CH₄ por unidad de consumo (Dall-Orsoletta *et al.* 2016; Perry *et al.* 2016). Johnson y Johnson (1993) citado por Johnson y Johnson (1995) estimaron que aproximadamente la emisión de CH₄ (g CH₄/Kg MS) decrece 1.6 por ciento por unidad de consumo incrementado. La base fisiológica que explica la reducción de emisiones de CH₄

cuando se incrementa el CMS es que cuando se incrementa el CMS se incrementa la tasa de pasaje a través del rumen, por ende, disminuye la digestión de la fibra, y se incrementa la eficiencia de los microorganismos y, además, una tendencia a mayores concentraciones de propionato en el rumen (Pinares-Patiño *et al.* 2003). Un mayor CMS con una mayor producción de leche y menor emisión de CH₄ están usualmente relacionados a una alimentación con mayor nivel de carbohidratos digestibles (Moe y Tyrrell 1979).

Jonker *et al.* (2017) estimaron que el 90.8 por ciento de la variación de la producción de CH₄ por unidad consumo esta explicado por la variación en el CMS y Boadi y Wittenberg (2002) reportaron que el CMS explica en 64% la variación de CH₄. Sin embargo, Lasseby *et al.* (1997) empleando la técnica del trazador SF₆ en ovinos al pastoreo observaron una baja correlación de entre la emisión de CH₄ (g/día) y el CMS ($r^2=37\%$) y que el CMS tan solo aporta en 14% a la variación de CH₄ y además reportaron que los factores intrínsecos fueron los más importantes. No obstante, cabe precisar que la reducción de la emisión CH₄ por unidad de consumo se observa mejor en dietas con alta digestibilidad que en dietas de baja digestibilidad (Blaxter y Clapperton 1965).

En dietas basadas en concentrados, el alto nivel de CMS está asociado con la reducción del pH en el rumen, decrecimiento de la actividad celulítica, reducción de la degradación de la pared celular, alta producción de propionato e incremento del pase de almidón directo al intestino (Demarchi *et al.* 2016). El incremento del CMS reduce la emisión de CH₄ por unidad de consumo y es más claro cuando suplementan con concentrados que incrementando el consumo de forrajes (Blaxter y Clapperton 1965). El decrecimiento en la emisión de CH₄ por unidad de consumo podría estar explicado porque al incrementarse el consumo, la tasa de pasaje se incrementa y se reduce el tiempo de exposición del material fibroso a los microorganismos metanogénicos (Perry *et al.* 2016; Blaxter y Clapperton 1965).

2.3.2 Composición química de la dieta

A pesar de que el principal factor que varía la emisión de CH₄ por unidad de consumo es el CMS, las fórmulas de predicción de CH₄ entérico en base al CMS tienen variaciones que no pueden ser explicadas por sí mismos. (Johnson y Johnson 1995; Demarchi *et al.* 2016). Moe y Tyrrel (1979) especifican que la emisión de CH₄ proviene de la digestión de la fibra. Dall-Orsoletta *et al.* (2016) encontraron diferencias en las emisiones de CH₄ con similares CMS

a causa principalmente del contenido de FDN. Pinares-Patiño y Clark (2010) reportaron una alta correlación (74%) entre la emisión de CH₄ (gCH₄/día) y el consumo de FDN.

Jonker *et al.* (2017) encontraron que el CMS explica por si solo en un 90.8% la variación en la producción de CH₄ por animal y tan solo el 3% esta explicado por el estado fisiológico, clase de ganado (leche o carne) y la composición de la dieta. En el mismo sentido Ricci *et al.* (2014) reportaron que el CMS o el consumo de energía explican en 96% la variación en la emisión de CH₄ entérico. Por otro lado, Hammond *et al.* (2009) reportaron que la variación en la composición química del forraje podría explicar hasta en un 20 por ciento de las variaciones en la emisión de CH₄. Demarchi *et al.* (2016) también reportaron que la emisión de CH₄ por unidad de consumo está más influido por el CMS que por la composición química del forraje.

La concentración de FDN es heterogénea con respecto a la composición química, digestibilidad y potencial para producir CH₄. Por ejemplo, la alta digestibilidad del FDN de granos de destilería produce la mitad o la tercera parte de CH₄/kg CMS comparado con forrajes con similar digestibilidad de MS (Johnson y Johnson 1995). Dado que los granos de destilería tienen una relación alta hemicelulosa/celulosa (1.5-1.6/1) comparado con grasas (0.67/1) y leguminosas (0.35/1). Moe y Tyrrell (1979) utilizaron estas observaciones y estimaron que la hemicelulosa digestible produce 37 por ciento menos CH₄ que la digestión de la celulosa. Por otro lado, Aguerre *et al.* (2011) encontraron que por cada gramo de CH₄ emitido proviene de 10.3 gramos de FDN consumido.

La proporción relativa de AGV (ácidos grasos volátiles) en el rumen es influenciado directamente por la proporción entre FDN (Fibra Detergente Neutro) y Carbohidratos no fibrosos (CNF) (Moe y Tyrrell 1979). La síntesis de propionato consume equivalentes reductores, mientras que el acetato y butirato generan más H⁺ para la metanogénesis (Knapp *et al.* 2014). En este sentido dietas basadas en forrajes con altos niveles de celulosa, hemicelulosa y lignina favorecen la producción de acetato y butirato, mientras que dietas basadas en granos tienden a aumentar la producción de propionato (Johnson y Johnson 1995).

2.4 Técnicas para cuantificar el metano entérico

Históricamente, las mediciones individuales de CH₄ se han empleado para determinar la pérdida de energía como componente del balance energético y para la estimación de la producción de calor basada en el intercambio respiratorio (Reynolds 2000 citado por Hammond, *et al.* 2016). Luego que se identificó que el CH₄ es un gas potencial que acelera el efecto invernadero, las investigaciones se han centrado en cuantificar el CH₄ entérico proveniente de la fermentación ruminal tanto para cuantificar, así como, estudiar estrategias de mitigación (Jhonson y Jhonson 1995). Actualmente, existen diversas metodologías que están siendo empleados alrededor del mundo para cuantificar la emisión de CH₄ entérico, en tanto, todas difieren en cuanto a su aplicación, costos, exactitud y precisión, pero en general todos los métodos directos se basan en la medición de la concentración de CH₄ en el ambiente (Hammond *et al.* 2016). También existen técnicas de medición de CH₄ que se basan en grupos de animales, pero en esta revisión nos enfocamos en técnicas que permitan medir el CH₄ entérico en animales individuales.

2.4.1 Cámaras respiratorias

Durante los últimos 100 años se han utilizado diferentes sistemas de cámaras respiratorias con el objetivo de estudiar el metabolismo energético de los animales (Johnson *et al.* 2003). La pérdida de CH₄ es una parte inherente del metabolismo energético de los rumiantes y diversos tipos de cámaras son herramientas valiosas en la determinación de cantidades de emisiones de CH₄ (Lassey 2007). El principio de las cámaras es recoger todo el aliento exhalado del animal y medir la concentración de CH₄ y CO₂. Estas cámaras poseen sistemas de aire acondicionado que pueden controlar la humedad y temperatura interna y mantenerlos en rangos estrechos (Brown *et al.* 1984).

Las cámaras respiratorias han sido consideradas como el método estándar y el más confiable para medir la emisión de CH₄ de rumiantes porque los factores ambientales pueden ser controlados, existe mayor estabilidad de los instrumentos y además, la fiabilidad puede ser medida (Jhonson y Jhonson 1995; Blaxter y Clapperton 1965). Sin embargo, existe el riesgo de crear un entorno artificial que afecte al comportamiento de los animales, alterar los patrones de consumo (CMS) y la selectividad. La disminución del CMS no sólo afectaría la emisión total, sino también las estimaciones derivadas como la pérdida de energía (Ellis *et al.* 2007).

Blaxter y Clapperton (1965) reportaron menos variación en la emisión de CH₄ en periodos más largos que en periodos cortos debido al periodo de acostumbramiento. Por otro lado, Hammond *et al.* (2016) reportaron que las tasas de flujo y la dinámica de mezcla de gases dentro de la cámara son una importante fuente de variación, ya que, estos determinan el tiempo de respuesta. Se ha señalado que la variación en la presión interna de la cámara podría afectar a la medición del CH₄. En este sentido, Blaxter y Clapperton (1965) reportaron que esa variación podría ser incluso de ± 1 mmHg.

2.4.2 Técnica del gas trazador hexafluoruro de azufre

La técnica del gas trazador Hexafluoruro de azufre (SF₆) es relativamente nueva y se describió por primera vez en 1993-1994 (Johnson y Johnson, 1995). La técnica del gas trazador SF₆ se utiliza ampliamente en Nueva Zelanda, Canadá, Australia, y los EE.UU. También lo emplean los países del norte de Europa, por ejemplo, Suecia y Noruega (Lasseby *et al.* 2011). Esta técnica permitió investigar la eficiencia energética del ganado en condiciones normales de pastoreo, porque los resultados obtenidos en cámaras respiratorias no se podían emplear en animales al pastoreo (Okelly y Spiers 1992) y, además, los resultados son pobremente repetibles (Pinares-Patiño y Clark, 2010). La ventaja principal de la técnica es que permite estimar el CH₄ en condiciones de pastoreo, además, es relativamente económica comparado con las cámaras respiratorias y brinda información de animales individuales (Murray *et al.* 1976).

Esta metodología se basa en que más del 95% del CH₄ es exhalado por las fosas nasales y el hocico del animal (Murray *et al.* 1976). Además, la emisión de CH₄ se puede medir si la tasa de emisión de un gas trazador es conocida (Ulyatt *et al.* 1999). Con este fin se necesita un gas no tóxico, fisiológicamente inerte y estabilizado. El gas debe mezclarse con el aire del rumen de la misma manera que el CH₄. El SF₆ fue elegido porque cumplía con los criterios anteriores y además tiene un límite de detección extremadamente bajo y es fácil de analizar (Lester y Greenberg 1950; Ulyatt *et al.* 1999). Las concentraciones de CH₄ y SF₆ pueden ser determinados fácilmente por cromatografía de gases (Hill *et al.* 2015). La tasa de emisión de CH₄ se calcula primero corrigiendo las concentraciones de CH₄ y SF₆ por las concentraciones ambientales de las mismas. Luego, mediante la relación de CH₄ y SF₆ en la muestra multiplicado por la tasa de liberación de los tubos de permeación, todo corregido por los pesos moleculares. Esta técnica elimina la necesidad de encerrar animales en jaulas o cámaras barométricas y permite manejar al animal en condiciones de pastoreo normal (Westberg *et al.* 1998).

Mucho se ha discutido sobre la precisión de esta técnica. Grainger *et al.* (2007) realizaron un estudio comparativo entre la técnica del trazador SF₆ y un circuito de cámara respiratoria con sistema abierto. Los resultados mostraron que no existen diferencias significativas entre ambas metodologías. Sin embargo, la variabilidad de la metodología SF₆ es superior a lo encontrado con cámaras respiratorias (6.1 y 4.3%, técnica del trazador de SF₆ y cámaras respiratorias respectivamente). McGinn *et al.* (2006) reportaron que la técnica del trazador de SF₆ subestima la emisión de CH₄ en aproximadamente cuatro por ciento, además encontraron que con una alimentación en base a forraje se puede estimar con mayor precisión que con alimentación mixta.

Uno de los principales puntos de discusión es la confiabilidad de la tasa de permeación. Ulyatt *et al.* (1999) reportaron que a los 235 días de calibración la tasa de permeación varió 20% (1 mg vs 0.8 mg) de su tasa inicial. Por ello, es altamente recomendable coleccionar los tubos de permeación cuando el experimento haya concluido. Sin embargo, Ramírez-Restrepo *et al.* (2015) encontraron que los resultados de la técnica del trazador de SF₆ brindan resultados similares que cámaras respiratorias (IC_{95%}=24.46; 24.94 vs IC_{95%}=23.4; 24 g CH₄/KgMS, Técnica del gas trazador SF₆ y cámaras respiratorias respectivamente).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Área de estudio

El presente estudio se realizó en la Cooperativa Agraria San Francisco de Chichausiri ubicada en la provincia de Junín, departamento de Junín; en la longitud oeste $75^{\circ} 59'17''$, latitud sur $11^{\circ} 11'31''$, a una altitud de 4 150 msnm. La zona se caracteriza por presentar dos estaciones bien diferenciadas, lluvias (octubre-marzo) y seca (mayo-setiembre). Según la Estación Meteorológica Santa Bárbara de Carhuacayan-Junín-SENAMHI ubicada en Santa Bárbara la precipitación promedio en el 2017 fue de 877 mm y la temperatura máxima y mínima promedio mensual de 16.85 y -5.19°C , respectivamente. La Cooperativa Agraria San Francisco de Chichausiri presenta una topografía regular, cubierta principalmente pastos naturales, con predominancia de gramíneas anuales y perennes, cuya distribución y grado de asociación estuvo condicionado por la fisiografía y naturaleza del suelo. La asociación de pastizales más frecuente en la zona es *Festuca humilior* y *Calamagrostis vicunarum*. El estudio se llevó a cabo en dos estaciones bien marcadas del año: la estación lluviosa se realizó en el mes de abril del 2017 y la estación seca en el mes de agosto del 2017. Las mediciones de metano entérico, consumo de materia seca y producción de leche se realizaron en simultáneo con el objetivo de expresar las emisiones por unidad de consumo y unidad de producto.

3.2 Animales

Se seleccionaron 12 vacas Criollas x Brown Swiss de primer parto en lactación (63 ± 22 y 203 ± 22 días en lactación en estación lluviosa y seca respectivamente) con aproximadamente 15 años de cruzamiento con Brown Swiss provenientes de La Cooperativa Agraria San Francisco de Chichausiri, la información detallada del ganado se encuentra en los Anexos 1 y 2. Los animales formaban parte de un grupo de 75 vacas en la estación lluviosa y 68 en la estación seca. La capacidad de carga fue relativamente mayor en la estación seca (0.52 UA/ha) que en la estación lluviosa (0.45 UA/ha) pero ambos valores se encuentran dentro de las recomendaciones para un pastizal calificado como muy bueno (Flores 1993).

El peso vivo promedio en la estación lluviosa y seca fueron 418 ± 54 y 448 ± 80 kg respectivamente. La toma de muestra de gases, heces y leche se realizaron a los mismos animales en la estación lluviosa y seca. Los animales tuvieron un periodo de acostumbramiento a los equipos (jáquimas y cánister) durante 14 días previos a la toma de muestras en cada estación.

3.3 Biomasa disponible y valor nutritivo del pastizal

3.3.1 Biomasa disponible

La disponibilidad de forraje se define como 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 logró cortando la biomasa vegetal al ras del suelo, eliminando el material senescente, las especies no forrajeras y las partículas de suelo, luego se secaron y pesaron (ASRM 1962). Para ello se muestrearon 10 cuadrantes de 0.5 m^2 en cada cancha al inicio de cada período de medición en zonas representativas de la cancha. Luego se pesaron en el lugar de medición con una balanza de 0.1 de sensibilidad. El contenido de materia seca se determinó en una estufa a $105 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas en el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA), Departamento de Nutrición, Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina de acuerdo a los métodos propuestos por la AOAC (2005). La disponibilidad de forraje (Kg/ ha) se obtuvo a partir de multiplicar el contenido de MS con la disponibilidad de pasto fresco (promedio de 10 cuadrantes).

3.3.2 Valor nutritivo del pastizal

a) Colección de muestras

La composición nutricional del pastizal se determinó a partir de muestras tomadas mediante la técnica de simulación manual (ASRM 1962). La simulación manual consistió en observar al animal de cerca durante 1 hora y media en las mañanas (06:00am), antes del ordeño y en la tarde (04:00pm) tomando muestras manuales representativas del forraje consumido por el animal. Se colectaron alrededor de 20 muestras por vaca. Las muestras de pasto fueron colectadas diariamente durante los últimos siete días de cada período y mezcladas para obtener una muestra representativa en cada período (estación lluviosa y seca).

b) Análisis químicos

Los análisis químicos de Humedad, Ceniza, Proteína Cruda, Fibra Detergente Neutro y Energía Bruta de las muestras de pasto se realizaron en el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA) del Departamento de Nutrición de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina. La humedad se determinó en una estufa a 105°C por 24 horas y el contenido de ceniza con una mufla a 550 °C por 4 horas. La proteína bruta (PB) de las heces se analizó por el método Semi-Micro Kjeldahl (AOAC 2005), el contenido de fibra detergente neutro (FDN) del pastizal se determinó por la técnica de Van Soest *et al.* (1991) y la energía bruta del pastizal se determinó mediante el ensayo del valor calorífico (bomba adiabática) empleando el método ASTM D-2015-66 (1972).

c) Prueba de la producción de gas para estimar digestibilidad y energía metabolizable del pastizal

La prueba de producción de gases (Hohenheim gas test, por sus siglas en inglés) fue diseñado por la Universidad de Hohenheim en Stuttgart-Alemania principalmente para estimar la digestibilidad de alimentos y estimar la energía metabolizable a través de la incubación *in vitro* y midiendo la producción de gases generada durante 24 horas (Menke *et al.* 1979). Las muestras que se emplearon procedieron de las muestras de pastizal obtenidas a través de la simulación manual, una muestra compuesta por cada estación.

Procedimiento

- Un día antes 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.
- Las jeringas fueron se mantienen atemperadas a 39°C mediante baño María hasta el día siguiente de la incubación.
- La preparación del medio empezaba las 6:30 am (composición detallada en el Anexo 5) para luego trabajar con 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 María, con aplicación de un flujo constante de CO₂ y constante agitación magnética para que el medio cambie de azul a rosado gracias al indicador resarzurine, indicando una completa reducción del medio.

- 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 María a 39°C con el flujo de CO₂ y constante agitación magnética.
- 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. Se eliminó cuidadosamente todo el aire (medio anaerobio) de las jeringas, manteniéndose de ese modo mediante el clip plástico.
- Acto seguido, las jeringas fueron incubadas (Anexo 16) a 39°C alrededor de las 7:15 am. Luego las muestras fueron agitadas a 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.
- Si la incubación fue exitosa entonces se procede a corregir los valores de producción de gases. El factor de corrección se obtiene dividiendo la producción estándar del sustrato entre la producción encontrada de los estándares en la incubación. Luego se multiplica la producción de gases de las muestras por el factor de corrección.

d) Digestibilidad del pastizal

Los resultados de la prueba de producción de gas junto con los datos de proteína cruda (PC), ceniza (Cz) se emplearon en la siguiente fórmula para estimar la digestibilidad de la materia orgánica (DMO, g/kg).

$$\text{DMO}\left(\frac{\text{g}}{\text{kg}}\right) = 8.89 * \text{PG} + 0.448 * \text{PC} + 0.651 * \text{Cz} + 149$$

Donde:

DMO: Digestibilidad de la materia orgánica (g/kg).

PG: producción de gas *in vitro* por 200 g MS de muestra (ml)

PC: proteína cruda, N₂*6.25 (g/kg).

Cz: contenido de ceniza (g/kg).

e) Energía Metabolizable

Los resultados de la prueba de producción de gas también se emplearon para estimar la energía metabolizable (EM, MJ/kg):

$$EM\left(\frac{\text{MJ}}{\text{kg}}\right) = 1.06 + 0.157 * PG + 0.0084 * PC + 0.022 * G - 0.0081$$

Donde:

EM: Energía Metabolizable (MJ/kg)

PG: producción de gas *in vitro* por 200 g MS de muestra (ml)

PC: proteína cruda, N₂*6.25 (g/kg).

G: Grasa cruda

3.4 Consumo

Con la finalidad de expresar el CH₄ por unidad de consumo se estimó el consumo de materia seca (CMS) a partir de estimar la producción de heces con el uso del indicador de TiO₂ y la estimación de la digestibilidad a partir de la concentración de N₂ fecal con el modelo no lineal propuesto por Lukas *et al.* (2015).

3.4.1 Producción total de heces

Para estimar la producción total de heces (H), a cada vaca se le suministró aproximadamente 25 g de TiO₂ (cantidades precisas en el Anexo 7) en cápsulas de gelatina a razón de una dosis por día en el ordeño (08:00am) durante 13 días, de los cuales 6 días fueron de adaptación, superior a un día a lo recomendado por Glindemann *et al.* (2009a) para alcanzar el equilibrio

de la concentración en heces, y los siguientes 7 días fueron de colección de muestras de heces directamente del recto. Se colectaron muestras (100g/día aproximadamente) durante los 7 días. Luego las 7 muestras se mezclaron en una sola muestra para luego ser secada en una estufa a 60 °C durante 48 horas. Luego se molieron y pasadas por un tamiz de 1 mm.

a) La determinación de TiO₂

La determinación de la concentración de TiO₂ en las heces se realizó en el laboratorio del Instituto de Ciencias Agrícolas en los Trópicos de la Universidad de Hohenheim, Stuttgart-Alemania siguiendo el procedimiento descrito por Brandt y Allam (1987). Las muestras fueron secadas a 40°C durante 5 días y molidas (1mm) antes de ser transportadas.

Procedimiento

- Se empleó primero una digestión con H₂SO₄ por 3 horas (0.5 g de muestra). 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 le adicionó H₂O₂ (0.1 ml, al 30%) produciendo una coloración amarilla la cual se detectó por colorimetría en el espectrofotómetro (Jenway 6300) a 405 nm (Figura 2).
- Luego las muestras son centrifugadas a 12000 rpm durante 10 minutos.
- Se estimó la concentración de TiO₂ en muestras a partir de una regresión lineal entre las diluciones de TiO₂ (25ul, 50ul, 100ul, 150ul, 300ul, 500ul y 1000ul) y las absorbancias a 405nm.
- Luego se expresó la concentración de TiO₂ por g MO (Anexo 6) y luego con los g TiO₂ de la dosificación se calculó la producción de heces.

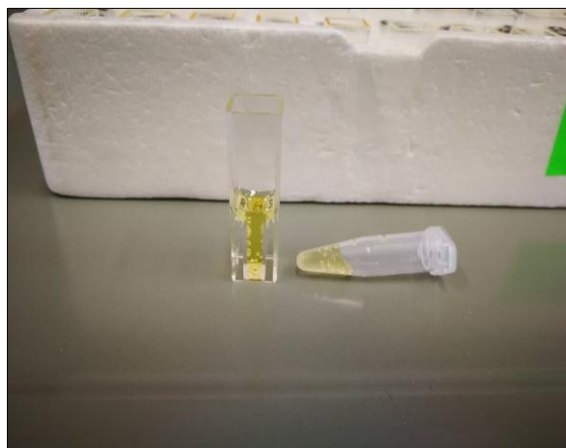


Figura 2: Cápsulas (1 ml) luego de agregar H₂O₂ (0.1 ml al 30%).

3.4.2 Digestibilidad de la Materia Orgánica (dMO)

El dMO se estimó a partir de CP ($N \times 6.25$) en la MO de las heces de acuerdo con la ecuación de regresión no lineal (Lukas *et al.* 2015) (3):

$$dOM = 72.86 - 107.7 * e^{(-0.01515 * \frac{CP[\frac{g}{kg}OM]}{100})}$$

3.4.3 Cálculos para obtener el consumo (CMO, CMS)

Los resultados de la producción total de heces y de la digestibilidad se emplearon en la siguiente fórmula para calcular el consumo de materia orgánica (CMO) y el consumo de materia seca (CMS)

a) Consumo de Materia Orgánica (CMO)

$$CMO(kg) = \frac{MOH * 100}{(100 - DMO)}$$

Donde:

CMO: Consumo de materia orgánica (kg)

MOH: Materia orgánica de las heces (kg)

DMO: Digestibilidad de la Materia Orgánica

b) Consumo de Materia Seca (CMS)

$$CMS(kg) = CMO + Cz$$

Donde:

CMS: Consumo de materia seca (kg)

CMO: Consumo de materia orgánica (kg)

Cz: Ceniza de la dieta (kg)

Finalmente, a los resultados de la ecuación se le adicionó el contenido de ceniza que se halla en la muestra de pasto proveniente de la simulación manual y se expresó en términos de materia seca.

3.5 Producción de leche

Otra forma de expresar la emisión de metano es por unidad de producto, también se le denomina intensidad de emisión. En este caso debido a la naturaleza de la actividad se expresó por unidad de kg de leche producida. El ordeño empezó todos los días a las 7:30 am. El sistema de ordeño fue de una sola vez al día con ternero al pie con la ayuda de un alambre que funcionaba como cerco eléctrico. Se ordeño dos pezones (uno anterior y otro posterior) para tomar la medida de la producción de leche y los dos pezones restantes se dejaron para que el ternero amamante. Se asumió que el ordeño de dos pezones representa aproximadamente el 50% de la producción real. Para las comparaciones entre estaciones se estandarizó a un mismo nivel energético (3.14 MJ/kg de leche). Se usó la siguiente fórmula de corrección propuesta por Tyrrell y Reid (1965). La determinación de grasa y sólidos no grasos de la leche se analizó a través de espectroscopia infrarroja (Milkoscope Julie Z7 automatic) en el Laboratorio de leche, derivados y carnes del Programa de Investigación y proyección social en Carnes de la UNALM.

$$\text{LCE(Kg)} = 5.58 \times G + 2.98 \times \text{SNG} - 0.0340 \times P$$

Donde:

LCE: Leche corregida a un mismo nivel de energía (kg)

G: Grasa en leche (kg)

SNG: Sólidos no grasos (kg)

P: Producción de leche/día (kg)

3.6 Emisión de metano entérico

La técnica del gas trazador de hexafluoruro de azufre (SF_6) es la técnica que se empleó para calcular las emisiones de CH_4 en las estaciones lluviosa y seca. Esta técnica es ampliamente utilizada en animales al pastoreo (Johnson y Johnson 1995) y está fundamentada en que aproximadamente el 95% del CH_4 ruminal (87% de la producción total) es eructado y el 89% del CH_4 generado en intestino grueso (11% del total) se elimina a través de los pulmones. Así, aproximadamente el 99% de la producción total de CH_4 es exhalado por hocico y ollares (83% por eructación y 16% por exhalación) (Murray *et al.* 1976). La técnica requiere introducir en el rumen del animal una cápsula conteniendo gas SF_6 , con una tasa de liberación conocida. El trazador se acumula en el rumen, y es posteriormente liberado por eructos de la misma manera que el CH_4 . El principio de esta técnica radica en que se ha demostrado que la razón entre las concentraciones medias de CH_4 y SF_6 , determinadas en

dichas muestras de aire, es una buena aproximación a la razón entre la tasa de emisión de cada cápsula y la tasa media de emisión de CH₄ (Johnson *et al.* 1994). Entonces, si se conoce la cantidad de trazador liberado en el periodo de colección de la muestra, multiplicando esta cantidad por la razón de las concentraciones CH₄/SF₆, se obtiene la emisión de CH₄ en el periodo de colección de la muestra (Pinares-Patiño *et al.* 2007).

Para la aplicación de la presente técnica, se realizó una capacitación en el CATIE-Turrialba, Costa Rica. La capacitación titulada “Emisiones de metano entérico y óxido nitroso de la ganadería aplicando la técnica del gas trazador SF₆” dictado por el Programa de Ganadería y medio ambiente (GAMMA) permitió ganar experiencia en la toma de muestras *in vivo* y además permitió implementar y adaptar la técnica a las condiciones altoandinas.

Cabe resaltar que el presente estudio es una de las primeras experiencias con la técnica del trazador de SF₆ en condiciones altoandinos y que a medida que comprendíamos, reducíamos los errores. Uno de los mayores inconvenientes que tuvimos ocurrió en la estación lluviosa debido a que la lluvia ingresaba a los filtros y ello provocaba taponamientos. Los primeros días de colección tuvimos un 50% de eficacia en el muestreo. Este problema lo superamos quitando el pequeño trozo de algodón que funcionaba como trampa para partículas y ello ocurría porque en lugares donde hay demasiada agua el algodón formaba una gran gota y ello provocaba que el agua ingrese a los filtros. Sin embargo, en la estación seca este problema no se presentó debido principalmente a las bajas precipitaciones. El segundo problema que podemos resaltar es la estandarización del submuestreo, específicamente el vacío de los viales era un punto que tenía varios factores que provocaban variación en el vacío de los mismos. Pero el factor más importante, en nuestra experiencia, fue el crimpado, ya que, este determinaba el grado de sellado de los viales. Existen más experiencias que en un nivel más detallado se encuentra en el documento elaborado por Haro *et al.* (2018).

3.6.1 Tubos de permeación

Los tubos de permeación de SF₆ fueron elaboradas en el centro de investigación y desarrollo Swift-Current, ubicada en Saskatchewan-Canadá. Las mismas consisten en una barra de bronce que posee una cavidad en la que contiene el gas SF₆ y está cerrada mediante una membrana de teflón (mecánicamente sostenida por una microgrilla de acero inoxidable) (Johnson *et al.* 2003).

Para conocer la tasa de permeación (mg/día) se mantuvieron los tubos en una estufa con aire forzado a 39C° y se pesaron semanalmente a la misma hora (09:00am) durante 9 semanas previas a la dosificación, siendo superior en una semana a lo recomendado por Berndt *et al.* (2014). La sensibilidad de la balanza fue de 0.0001 gr. Se consideró la pérdida de peso del tubo como la liberación de SF₆. Se elaboró una ecuación de regresión con un R² de 99.9% con las variaciones de peso para estimar la tasa de liberación en los días de toma de muestra. La pendiente de la ecuación es la tasa de liberación de gas SF₆ (Cuadro 3). La dosificación de los tubos de permeación se realizó de forma aleatoria siete días previos a la toma de muestras de acuerdo con Johnson y Johnson (1995) y Deighton *et al.* (2014).

Cuadro 3: Información de tubos de permeación.

N° de tubo de permeación(TP)	Peso vacíos de TP	Carga SF ₆ (mg)	Tasa de permeación (mg/día)	R ²	Tiempo de vida (días)	N° de vaca dosificada
39	54.7	2592	5.7	1.0000	369	9
40	55.1	2521	5.2	0.9999	399	2
41	56.6	2513	3.4	0.9999	647	1
42	55.6	2453	5.6	0.9999	346	3
43	54.9	2558	5.9	0.9999	343	12
44	55.1	2308	5.0	0.9999	376	7
45	54.6	2609	6.5	0.9999	311	11
46	55.7	2474	5.3	0.9999	380	8
47	54.8	2512	5.6	0.9999	356	5
48	55.7	2537	4.8	0.9999	435	4
49	55.0	2499	5.2	0.9999	387	10
50	54.3	2836	5.0	0.9999	475	6

3.6.2 Sistema de colección de gases

Los elementos que se usaron para esta técnica se basan en la sugerencia por Berndt *et al.* (2014). Usamos los elementos de conexión rápida Swagelok ® para la línea de colección de gases y elementos de ajuste para la generación de vacío y toma de muestra (Figura 3).

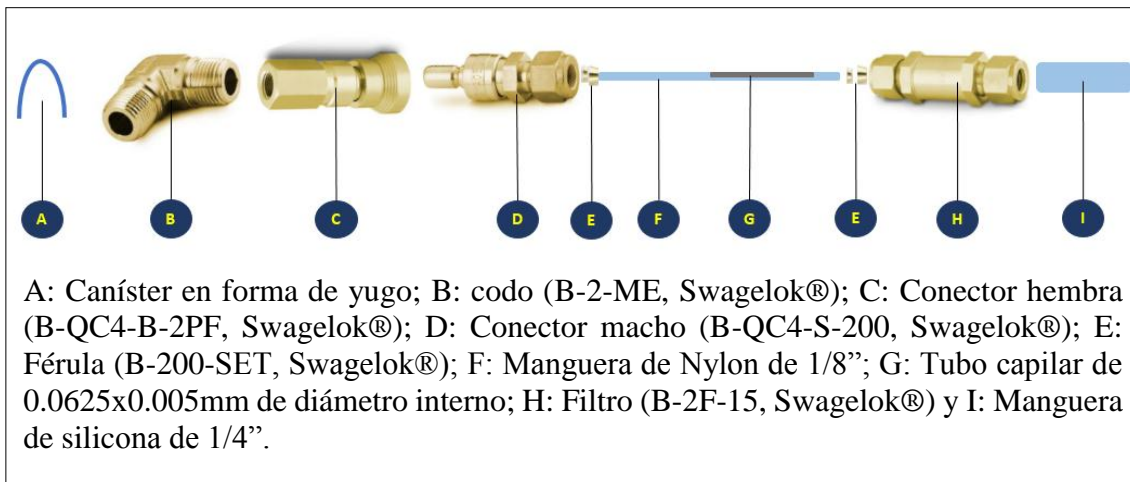


Figura 3: Componentes de la línea de colección de muestras de gases.

3.6.3 Collares

En el método original descrito por Johnson y Johnson (1995) usó una esfera de acero inoxidable de un litro, desde entonces se han desarrollado innovaciones al modelo original. En la actualidad se han desarrollado adaptaciones a la metodología en cuanto a material y forma. En el presente estudio se empleó collares doblados en forma de “yugo” elaborados a partir de tubos de PVC (Figura 4).

Para confeccionar los caníster se emplearon tubos de alta presión para agua de 2” y doblaron en una estufa a 120 C° por 5 min para darle la forma de yugo. Luego de pegar cada pieza se mantuvo 4 días en reposo antes de someter al calor. Antes del doblado se realizó un orificio con un taladro de pedestal con una broca de 11mm y luego se hizo la rosca con una terraja macho NTP de 1/2”. Luego del pegado de tapas se procedió a conectar el codo y hembra con teflón Swagelok®. Para verificar la calidad de los caníster se limpiaron en cuatro tiempos con nitrógeno de alta pureza y luego se mantuvo en vacío durante cuatro días y se descartó los caníster que ganaban presión en por lo menos 5 por ciento de la presión inicial.



A: codo de 90° para agua fría de presión de 2" (PAVCO®); B: dos porciones de 0.5m de tubo de 2" (Tubería para agua fría con rosca NTP, espesor de 3.9mm, PAVCO®); C: tapa a presión de 2" (PAVCO®); D: codo (B-2-ME, Swagelok®); E: hembra (B-QC4-B-2PF, Swagelok®).

Figura 4: Caníster en forma de yugo.

3.6.4 Determinación de emisiones de metano

a) Toma de muestras de gases

La toma de muestra de gases se realizó en cánisters de 2.042 Lt y a través de líneas de flujo con capilares previamente calibrados 0.95-1.1 cc/min a 800mbar con N₂ ultra puro.

Procedimiento

- Cada mañana (05:00 a.m.) los cánisters eran despresurizados 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 hasta llegar a una presión diferencial de -615 mbar en abril y -620 mbar en agosto.
- Luego de 24 horas de colecta, se desconectó cada caníster y se conectó el siguiente caníster para la siguiente toma de muestra (Figura 5).
- En el laboratorio se presurizó a 350 mbar con nitrógeno ultra puro y se dejó estabilizar por 3 horas.



Figura 5: Recambio de caníster.

Luego se tomó submuestras en viales de 20 ml, dos viales por cada caníster, con jeringas de 50 ml. Para el llenado de cada vial, se eliminó los primeros 100 ml y los siguientes 50 fueron trasladados al vial.

- Los viales previamente fueron despresurizados con la misma bomba a través de un sistema de vacío de viales. Todos los viales se mantuvieron en refrigeración con la ayuda de hielos en gel y luego transportados vía aérea (en cámaras presurizadas) hasta el laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Zootecnia de la UNALM.

b) Análisis de CH₄ y SF₆

La concentración de CH₄ (ppm) y SF₆ (ppt) de los viales fueron determinadas 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 empleándose nitrógeno como gas portador (30 ml/min). Asimismo, se realizó la calibración con un estándar (Scott-Marrin Inc.) de concentración conocida, 48.7 ppm de CH₄ y 237.9 ppt de SF₆. Las verificaciones de rutina se realizaron con el estándar al empezar y al finalizar las lecturas incluidas los blancos. Las verificaciones de rutina se realizaron con el estándar al empezar las lecturas y al finalizar grupo de 26 lecturas incluidas los blancos.

c) Cálculo de emisiones de metano

El modelo propuesto por Johnson y Johnson (1995) y la guía elaborada por Berndt *et al.* (2014) proponen la misma ecuación de cálculo. Las concentraciones de CH₄ y SF₆ se determinaron por cromatografía de gases. La tasa de emisión de CH₄ se calculó mediante la relación de CH₄ y SF₆ en la muestra multiplicado por la tasa de liberación de los tubos de permeación y todo corregido por los pesos moleculares según la siguiente fórmula:

$$CH_4 \left(\frac{g}{día} \right) = TPSF_6 (mg/día) * \frac{[CH_4] - [CH_4_{amb}]}{[SF_6] - [SF_6_{amb}]} * \frac{SF_6PM}{CH_4PM}$$

Donde:

CH₄ (g/día): Emisión de CH₄ por día.

TPSF₆: Tasa de permeación (mg/día).

[CH₄]: Concentración de CH₄ en la muestra (ppm).

[SF₆]: Concentración de SF₆ en la muestra (ppt).

[CH_{4amb}]: Concentración de CH₄ en el ambiente (ppm).

[SF_{6amb}]: Concentración de SF₆ en el ambiente (ppt).

CH₄PM: Peso molecular del CH₄

SF₆PM: Peso molecular del SF₆

Además, se corrigieron las concentraciones de CH₄ y SF₆ con las presiones después de la toma de muestra y luego de presurizar con Nitrógeno (N₂) de acuerdo con las modificaciones a la metodología propuesta por Deighton *et al.* (2014).

$$[Gas\ c] = [Gas\ crom] \frac{P3}{P2 - P1}$$

Donde:

[*Gas c*]: Concentración de CH₄ y SF₆ corregida.

[*Gas crom*]: Concentración de CH₄ y SF₆ proveniente del cromatógrafo.

P1: Presión diferencial antes de la colección.

P2: Presión diferencial luego de la colección.

P3: Presión diferencial luego de presurizar con N₂.

Luego de calcular las emisiones de CH₄ por vaca (g/vaca/día), también se expresaron por kg de PV (g/kg PV), por unidad de consumo (g/kg MS, g/kg MO), por unidad de consumo digerido (g/kg dMS, g/kg dMO), por kg de FDN consumido (g/kg FDN) por unidad de LCE (g/kg LCE) y como porcentaje de la energía bruta (*Ym*, por sus siglas en ingles).

$$Ym = \frac{CH4(g) * 55.65 \left(\frac{MJ}{kg}\right)}{EB(MJ/kg) * CMS(kg)}$$

Donde:

Ym: Porcentaje de la energía bruta que se pierde como CH₄ (%)

CH₄: Emisión de metano (g/vaca/día)

EB: Energía bruta de la dieta (MJ/kg)

CMS: Consumo de materia seca (kg/vaca/día)

3.7 Análisis estadístico

Debido a la naturaleza del estudio se empleó el Test de datos pareados. Se realizó la validación de supuestos (normalidad y homoceasticidad), donde la normalidad se probó mediante el test Anderson-Darling y se usó el software MINITAB® 18 (2017). Se utilizó un nivel de significancia del 5%, donde el p-valor menor o igual a 0.05 se consideró significativo mientras que un p-valor mayor a 0.05 se consideró no significativo. Se empleó la tabla de probabilidad de la T de Student para encontrar el p-valor de la T pareada.

Modelo

$$di = xi - xii$$

Donde:

di = Diferencia de datos pareados

xi,1 = Media de una muestra en el tiempo i.

xi,2 = Media de la misma muestra en el tiempo ii.

Cálculos:

- T pareada

$$T = \frac{Xdi - \mu_0}{Sd/\sqrt{n}}$$

Donde

T= valor de la T pareada

Xdi: Media de las diferencias de las muestras pareadas.

μ_0 = Media hipotética de la población para las diferencias

Sd: Desviación estándar de la muestra para las diferencias de las muestras pareadas

n: Tamaño de la muestra

- Hipótesis

Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0

Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Disponibilidad y composición química del pastizal

Los resultados de disponibilidad y composición química del pastizal en la estación lluviosa y seca se encuentran en el cuadro 4. La biomasa disponible fue superior en la estación lluviosa con respecto a la estación seca (3300 vs 2448 kgMS/ha). Ambos valores son inferiores a lo reportado por Moscoso *et al.* (2017) quienes reportaron una biomasa disponible de 3546 kgMS/ha en pastizales altoandinos dominados por *Festuca dolichophylla* y *Muhlenbergia fastigiata*. La menor disponibilidad de biomasa en la estación seca puede deberse a la carencia de precipitaciones y ello puede afectar a la formación de nódulos de especies leguminosas e influir directamente sobre la cantidad de nitrógeno fijado y por lo tanto sobre la disponibilidad de pastizales (Díaz 2001). Sin embargo, García (2018) reportó que la *Festuca humilior* es una especie que distribuye bien sus nutrientes para la producción de semillas buscando asegurar su permanencia en la comunidad, a pesar de estar en suelos altamente degradados y en condiciones climáticas extremas. Por otro lado, el cambio climático es un fenómeno que altera los regímenes de precipitación y esto es uno de los principales impulsores del cambio en los ecosistemas de los pastizales (Polley *et al.* 2013). Otro de los factores que pudo provocar una menor disponibilidad en la estación seca es la temperatura (Bojórquez 1994). Las bajas temperaturas afectan directamente a la tasa fotosintética, permeabilidad de la pared celular, absorción de agua y nutrientes, transpiración y coagulación de las proteínas de las plantas, por lo tanto, afectan su tasa de crecimiento (Tisdale y Nelson 1991; citado por Alaluna y Villagarcía 2000). Otro factor posible puede ser el fotoperiodo, la mayor cantidad de horas luz en la estación lluviosa pudo dar ventaja al incremento de biomasa debido a que la radiación es mayor en la estación lluviosa. En este sentido, Havlin *et al.* 1999 citado por Uribe (2008) menciona que en la región altoandina del Perú el fotoperiodo varía de 12 a 13 horas en la estación lluviosa o 9 a 10 horas en la estación seca y también la radiación mensual es alta en noviembre y baja en mayo.

El contenido de materia orgánica (MO) fue ligeramente superior en la estación seca (946.9 vs 960.9 g/Kg) pero ambos están de acuerdo con los valores reportados por Rodríguez (1984)

y Moscoso *et al.* (2017) para pastizales altoandinos. El contenido de proteína cruda (PC) generalmente es bajo en zonas altoandinas porque la disponibilidad de nitrógeno en el suelo es baja debido a la baja tasa de mineralización como consecuencia de las bajas temperaturas, por ello, el contenido de PC en pastizales altoandinos oscila entre 50 y 120 g/KgMS (Chancayauri 1999). En el presente estudio el pastizal estuvo dominado por las especies *Festuca humilior* y *Calamagrostis vicunarum* donde el contenido de proteína (109.9 y 72.4 g/KgMS, estación lluviosa y seca respectivamente) se encontró dentro de los valores reportados por Rodríguez (1984) y Chancayauri (1999). En la estación seca, el contenido de PC (72.4 g/Kg) fue menor a lo observado en la estación lluviosa (109.9 g/KgMS). De manera similar, Chancayauri (1999) también reportó que el contenido de PC a inicios de la estación lluviosa es mucho mayor que la estación de lluvias y está a la vez mayor que la estación seca: 136; 87 y 76 g PC/KgMS; respectivamente. Rodríguez (1984) observó en pastizales como en *Festuca dolichophylla* valores altos de PC (201 g/Kg) en las primeras etapas de crecimiento como también valores muy bajos (49.9 g/Kg) en la etapa de caída de semillas y en la especie *Calamagrostis vicunarun* valores de PC desde 70 hasta 149 g/Kg

Cuadro 4: Disponibilidad y composición química del pastizal altoandino en estación lluviosa y seca.

Atributo	Estación	
	Lluviosa	Seca
Biomasa Disponible(kg MS/ha)	3300	2448
<i>Composición Nutricional (Base seca)</i>		
MO(g/kg)	946.9	960.9
PC(g/kg)	109.9	72.4
FDN(g/kg)	676.9	660.0
FDNmo (g/kgMO)	714.9	686.9
Digestibilidad(g/Kg) *	478.2	476.2
EB(MJ/kg)	17.5	17.3
EM(MJ/kg)	6.7	6.9

MO: Materia Orgánica; PC: Proteína Cruda; FDN: Fibra Detergente Neutro; FDNmo: FDN en base a la MO.

*Digestibilidad estimada a partir de la prueba de producción de gas.

Chancayauri (1999) consideró el inicio de la estación lluviosa en el mes de noviembre, lluviosa en marzo y seca en julio. Lo cual se encuentra cercano a los meses de evaluación del presente estudio (Abril: Estación Lluviosa y Agosto: Estación Seca). Argote (1999) también encontró valores similares de PC en pastizales dominados por *Calamagrostis antoniana* y *Festuca dolichophylla* (91.2 a 96.4 g PC/KgMS, estación de lluvias; 84.0 a 92.8 g PC/KgMS, estación seca). No obstante, las diferencias en el contenido de PC entre el presente estudio, Rodríguez (1984), Chancayauri (1999) y Argote (1999) podrían ser debido a la composición florística y al estado fisiológico de la planta en el cual se evaluaron.

Vigo (1973) reportó que el contenido de PC y FDN varía de acuerdo a la edad de la planta. Además, Rodríguez (1984) observó una relación lineal inversa entre el contenido de PC y FDN. Sin embargo, en el presente estudio en la estación lluviosa se obtiene mayor proporción de PC y mayor contenido de FDN. Similar a ello también fue reportado por Ulyatt *et al.* (2002) al evaluar la variación de emisión de CH₄ entre la variación estacional de la composición química de una asociación rye gras/trébol. El contenido de FDN en el presente estudio fue 676.9 y 660 g/KgMS en la estación lluviosa y seca respectivamente. Ambos se encuentran dentro de los valores reportados en estudios con pastizales altoandinos (Argote 1999). Sin embargo, estos resultados se encuentran por debajo de lo reportado por Rodríguez (1984) quien encontró valores de 707 g/Kg de FDN en la *Mhulembergia fastigiata* y contenidos altos para la *Festuca dolichophylla* en 752 g FDN/Kg. Además, cuando el contenido de FDN es expresado en base a la materia orgánica (FDN_{mo}) la diferencia se muestra mejor a favor de la estación seca. Sin embargo, la tendencia es que el contenido de las paredes celulares se incremente a medida que avanza las estaciones y la edad de la planta (Rodríguez 1984; Chancayauri 1999).

La digestibilidad *in vitro* de la MS obtenida por el método propuesto por Close y Menke (1986) fueron similares para ambas estaciones (478.2 y 476.2 g/Kg en la estación lluviosa y seca respectivamente). Estos resultados son bajos comparados con estudios realizados en pastizales altoandinos. Chancayauri (1999) reportó la digestibilidad *in vitro* de pastos naturales dominados por *Festuca humilior* y *Calamagrostis vicunarum* y sus resultados oscilaban entre 503.2 y 518 g/Kg. Argote (1999) y Chancayauri (1999) obtuvieron digestibilidades *in vitro* entre 577 y 735 g/Kg. Sin embargo, Argote (1999) encontró mayor digestibilidad *in vitro* en la estación seca que en la estación lluviosa (620.7 vs 522.0 g/KgMS). De la misma manera Uribe (2008) también encontró mayor digestibilidad *in vitro*

en la estación seca (55.9 %) que en fines de la estación lluviosa (54.3 %) pero ambos menores a la estación lluviosa (68 %) con pasturas asociadas rye grass-dactylis-trebol.

Los valores similares de digestibilidad podrían deberse a la selectividad de los animales, dado que a finales de la estación seca ya existen los rebrotes tiernos producto de las primeras lluvias y generalmente contienen menores cantidades de fibra que un pasto de mayor estado fisiológico (Argote 1999). Además, especies de pastizales altoandinos como el *Carex equadorica*, *Alchemilla pinnata* y *Gnaphalium sp* son especies que se encuentran disponibles durante todo el año, por lo tanto, podrían incrementar el contenido de PC, la digestibilidad y estaría incrementando el valor nutritivo en forma constante aún en la estación de sequía.

El contenido de energía bruta del pastizal en ambas estaciones (17.5 y 17.3 MJ/kg, estación lluviosa y seca respectivamente) se encuentra ligeramente por encima de los valores reportado por Moscoso *et al.* (2017) en pastizales (17.2 MJ /kg) pero inferiores a lo estimado por el MINAM (2016) (18.4 MJ /kg). La energía metabolizable (EM) estimada a partir de la ecuación propuesta por Close y Menke (1986) fue 6.7 y 6.9 MJ/Kg en la estación lluviosa y seca respectivamente. Sin embargo, los resultados fueron ligeramente inferiores a los reportados por Chancayauri (1999) quien reportó la energía metabolizable de pastos naturales en estación seca y lluviosa (7.06, 7.87 MJ/Kg en estación seca y lluviosa respectivamente).

4.2 Consumo y Producción de leche

Los resultados promedios de la estación lluviosa y seca sobre consumo (CMS, CMO, CPC y CFDN) y digestibilidad se encuentran en el cuadro 5 y los resultados de producción de leche se encuentran en el cuadro 5. Los resultados detallados se encuentran a partir del anexo 7 hasta el 13 y los análisis estadísticos se encuentran a partir del anexo 17 hasta el 28. El consumo de materia seca (CMS) (10.4 vs 9.3 kgMS) y consumo de materia orgánica (CMO) (10 vs 8.8 KgMO) fue significativamente superior ($p < 0.05$) en la estación seca que en la estación lluviosa pese a que la digestibilidad en la estación seca (598 g/kg) fue significativamente inferior ($p < 0.05$) a la estación lluviosa (626 g/kg). Una posibilidad del mayor CMS en la estación seca es el bajo contenido de PC. Cuando la PC se encuentran cercanos al siete por ciento el CMS se incrementa linealmente básicamente para cubrir sus requerimientos mínimos de PC para asegurar la mínima actividad ruminal (Van Soest 1994; citado por Demarchi *et al.* 2016). El consumo de proteína cruda (CPC) fue significativamente superior ($p < 0.05$) en la estación lluviosa a pesar de que hubo menor CMS, porque hubo menor concentración de PC

en la estación seca. La otra explicación es que las vacas en la estación seca tuvieron mayor demanda nutricional para mantenimiento debido a que el PV en la estación seca (448 kg) fue superior que en la estación lluviosa (418kg). Empleando las ecuaciones de predicción (Anexo 15) de CMS propuestas por el IPCC (2006), el CMS debería ser en estación lluviosa, 8.9kg y en estación seca, 9.4kg. Cabe reconocer que el número de dosificaciones del indicador (TiO₂) y el número de colectas de heces no fueron los adecuados por lo que el consumo podría estar sobreestimado. Batista *et al.* (2011) con una sola dosificación (10 g TiO₂), mediante una sonda esofágica, sugieren coleccionar muestras de heces por lo menos cuatro veces al día. Sin embargo, Myers *et al.* (2006) emplearon cápsulas de gelatina, al igual que en el presente estudio, sugieren que el número de colectas puede reducirse a dos sin afectar la concentración en heces. El consumo expresado como porcentaje del PV es una medida ampliamente utilizada y en vacunos se encuentra alrededor de 2.5 por ciento. Con el mismo valor el MINAM (2016) estimó el CMS para elaborar los inventarios de gases de efecto invernadero. Sin embargo, los valores encontrados en el presente estudio fueron 2.2 y 2.3 por ciento del PV en la estación lluviosa y seca respectivamente. Estos valores podrían ser más reales considerando el tipo de sistema y la baja calidad de pastizales que es lo usual en zonas altoandinas.

Cuadro 5: Consumo y digestibilidad de vacas en lactación en estación lluviosa y seca en pastizales altoandinos.

	Estación		P-valor
	Lluviosa	Seca	
CMS (kg)	9.3 ^a ± 1.5	10.4 ^b ± 2	0.009
%PV (%)	2.2 ^a ± 0.3	2.3 ^b ± 0.3	0.023
CMO (kg)	8.8 ^a ± 1.4	10 ^b ± 1.9	0.005
CPC (kg)	1.0 ^a ± 0.1	0.8 ^b ± 0.2	0.000
CFDN (Kg)	6.3 ^a ± 1	6.9 ^b ± 1.3	0.029
Digestibilidad (g/kg)	626 ^a ± 0.1	598 ^b ± 0.1	0.000

Los valores son promedios de doce vacas ± la desviación estándar. En cada fila las medias seguidas por diferentes letras difieren estadísticamente ($P \leq 0.05$).

La digestibilidad considerada para estimar el CMS fue a partir de la ecuación propuesta por Lukas *et al.* (2015) y la digestibilidad estimada a partir de la producción de gases propuesta por Close y Menke (1986) se empleó para el valor nutricional del pastizal. La digestibilidad de la MO estimada a partir de la producción de gases es bastante inferior a la digestibilidad de la MO estimada a partir del nitrógeno fecal. Estos resultados son comparables con los resultados *in vitro* reportados por Argote (1999) y Chancayauri (1999) pero en el momento de estimar el consumo tiende a subestimarlos. La ecuación de regresión no lineal de Lukas

et al. (2015) se elaboró a partir del nitrógeno fecal y la digestibilidad aparente de la materia orgánica de vacunos lecheros y, además, el rango de digestibilidad fue de 579 hasta 719 g/KgMO, es decir, dentro del rango de digestibilidad que se espera encontrar en pastizales altoandinos. Esta técnica ha sido considerada como la más precisa para estimar la digestibilidad de la MO debido a que su alta correlación ha sido reportada (Wang *et al.* 2009). Además, la técnica nos permite obtener mayor cantidad de datos y no un solo valor de digestibilidad por cada estación (Peripolli *et al.* 2011).

Glindemann *et al.* (2009b) reportaron que la digestibilidad y el CMO están negativamente correlacionados con el contenido de FDN. De acuerdo con ello, en la estación lluviosa, donde hubo mayor concentración de FDN se obtuvo un menor consumo comparado con la estación seca. Sin embargo, la digestibilidad fue significativamente superior ($p < 0.05$) en la estación lluviosa que en la estación seca en 4.5 por ciento, pero consumieron 12 por ciento menos. La menor digestibilidad podría deberse a que se incrementó la capacidad de carga del pastizal en la estación seca tal como lo reportaron Glindemann *et al.* (2009b) en sus estudios de capacidad de carga con ovinos. Ello se debe a que cuando se incrementa la capacidad de carga, disminuye la disponibilidad de pastos y por ende decrece la selectividad. También Chancayauri (1999) reportó que a medida que avanza las estaciones del año se incrementa la concentración de FDN en la planta y por ende la digestibilidad disminuye.

Cuadro 6: Producción y composición de leche de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.

Parámetros	Estación		P-valor
	Lluviosa	Seca	
Producción de leche (kg/d)	2.8 ^a ± 0.3	1.8 ^b ± 0.2	0.000
Producción de grasa (g/d)	60.1 ^a ± 9.43	68.1 ^b ± 15.12	0.025
Grasa (%)	3.8 ^a ± 0.57	4.3 ^a ± 0.53	0.083
ST (%)	12.9 ^a ± 1.07	13 ^a ± 0.88	0.224
SNG (%)	9.1 ^a ± 0.66	8.7 ^b ± 0.44	0.002
LCE* (kg/d)	3.1 ^a ± 0.4	2 ^b ± 0.4	0.001

Los valores son promedios de doce vacas ± la desviación estándar. En cada fila las medias seguidas por diferentes letras difieren estadísticamente ($P \leq 0.05$). *Nivel de significancia 0.05. ST: Sólidos totales; SNG: Sólidos no grasos; LCE: Leche corregida a energía.

La producción de leche corregida a energía (LCE) en la estación lluviosa (3.1 kg) fue mayor ($p < 0.05$) a la producción de la estación seca (2 kg). Sin embargo, las producciones de leche

de ambas estaciones estuvieron debajo de lo reportado por el MINAM (2016) (4 kg/vaca/día: departamento de Junín). El porcentaje de grasa en sistemas basados en pastizales tiende a ser superior a sistemas estabulados. El porcentaje de grasa fue superior en la estación seca (4.3%) que en la estación lluviosa (3.9%) y a pesar de que en la estación seca se produjo aproximadamente 1kg menos, la producción de grasa fue superior ($p < 0.05$) en la estación seca (68.1 g/vaca/d) que en la estación lluviosa (60.1 g/vaca/d). El mayor porcentaje y producción de grasa en la estación seca se debe a que las vacas en la estación seca consumieron mayor cantidad de FDN (6.9 vs 6.3 kg FDN) y según Arelovich *et al.* (2008) el porcentaje de grasa aumenta linealmente con el mayor consumo de FDN.

El mayor contenido de fibra en la dieta incrementa el nivel de grasa en la leche debido posiblemente a una mayor síntesis de acetato y por parte de los microorganismos celulíticos del rumen (Uribe 2008). El mayor nivel de acetato promueve la mayor síntesis de grasa en la leche. (Church 1993). Sin embargo, Uribe (2008) observó mayores niveles de grasa en leche en la estación inicios de lluvias, pero en animales que estaban iniciando la lactación y con animales que estaban terminando la lactación si observo mayores niveles de grasa en la estación seca (3.7) que en la estación inicios de lluvias (3.8). Pero ambos valores son inferiores al presente estudio porque el nivel de FDN es altamente diferentes a la época seca.

4.3 Emisión de metano entérico

El presente estudio es uno de los primeros intentos de medir las emisiones de CH_4 entérico en condiciones de pastizales altoandinos. Por otro lado, es importante reconocer que tuvimos ciertas dificultades en la toma de muestras lo cual provocó perder muestras de varios animales. Sin embargo, ello se superó aumentando en un día más al periodo de colección para subsanar las pérdidas de muestras. Los resultados promedios de emisión de CH_4 entérico en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca se encuentran en el Cuadro 7 y los resultados detallados se encuentran en los Anexos 3 y 4, además los resultados del análisis estadístico se encuentran a partir del anexo 29 hasta el 37. La producción de CH_4 de vacunos en lactación varía entre 100 y 450 g CH_4 /día dependiendo principalmente del CMS y calidad de dieta (Jhonson y Jhonson 1995; Ulyatt *et al.* 1999). La emisión de CH_4 en la estación seca fue significativamente superior ($p < 0.05$) que la estación lluviosa (257 vs 213 g CH_4 /vaca/día). Estos valores están de acuerdo con Pinares-Patiño *et al.* (2003), quienes reportaron valores desde 200 hasta 242 g/ CH_4 en pastos seminaturales de clima templado con vacas de similar peso vivo. La variación en la emisión de CH_4 en diferentes estaciones

fue observada por Ulyatt *et al.* (2002) en vacunos pastoreando una asociación de rye gras/trebol, donde se relacionaba mayores emisiones a mayores consumos de MS, similar a lo reportado en el presente estudio. Por otro lado, las emisiones encontradas en el presente estudio (235 g/vaca/día, promedio de ambas estaciones) son inferiores a lo estimado (281 g/vaca/día, promedio) siguiendo las directrices del IPCC (2006) con el nivel dos (Anexo 15).

En el Perú, uno de los primeros estudios de CH₄ entérico con pastizales altoandinos fue desarrollado en el centro experimental de “La Raya”-Cuzco a 4200 msnm (Moscoso *et al.*, 2017). Moscoso *et al.* (2017) reportaron que la emisión de CH₄ entérico de vacas en lactación pastoreando 8 horas diarias en pastizales altoandinos suplementado con 25 kg de ensilado fresco de avena fue 421 g CH₄/vaca/día en la estación seca. Este valor es superior a lo encontrado en la misma estación del presente estudio (257 g CH₄/vaca/día) e incluso cuando es expresado por unidad de PV (0.87 g CH₄/kg PV) sigue siendo superior a lo encontrado en el presente estudio (0.59 g CH₄/kg PV).

Las mayores emisiones reportadas por Moscoso *et al.* (2017) podrían ser porque son animales que recibieron suplementación de aproximadamente 6.25 kg MS como ensilado de avena y generalmente a mayores niveles de CMS la emisión de CH₄ se incrementa también (Pinares-Patiño *et al.* 2009). No obstante, la comparación no puede ser más precisa debido a que Moscoso *et al.* (2017) no reportan datos de consumo y teniendo en cuenta que el consumo es el primer factor determinante en la producción de CH₄ por animal y por unidad de consumo, por lo tanto, la diferencia podría ser el nivel de CMS (Jhonson y Jhonson 1995).

Cuadro 7: Promedio de emisión de metano entérico de vacas en lactación en pastizales altoandinos en la estación lluviosa y seca.

Metano	Estación		P-valor
	Lluviosa	Seca	
g CH ₄ /d	213 ^a ± 23	257 ^b ± 48	0.002
g CH ₄ /kg PV	0.51 ^a ± 0.1	0.59 ^a ± 0.1	0.028
g CH ₄ /Kg CMS	23.2 ^a ± 2	25 ^a ± 4	0.180
g CH ₄ /Kg MS digestible	39.6 ^a ± 3.9	45.5 ^b ± 6.8	0.025
g CH ₄ /Kg CMO	24.5 ^a ± 2	27.3 ^a ± 3.5	0.273
g CH ₄ /Kg MO digestible	39.3 ^a ± 3.7	43.5 ^b ± 6.6	0.000
g CH ₄ /Kg FDN	34.3 ^a ± 3	37.9 ^a ± 6	0.084
g CH ₄ /Kg de leche	68.9 ^a ± 11.4	131.2 ^b ± 31.1	0.000
Y _m (%EB)*	7.4 ^a ± 0.6	8.0 ^a ± 1.3	0.137

Los valores son promedios de doce vacas ± la desviación estándar. 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.

*Considerando 55.65 MJ/kg de CH₄

En la estación seca se obtuvo mayor emisión de CH₄ entérico por animal (p<0.05) y también por unidad de consumo digestible (p<0.05) (g CH₄/Kg CMSd; g CH₄/Kg CMOd) pero no se encontró diferencias significativas por unidad de consumo (g CH₄/Kg CMS; g CH₄/Kg CMO). Ello no está de acuerdo con lo reportado por Jhonson y Jhonson (1995) y Molano y Clark (2008) quienes reportaron que la emisión de CH₄ es mayor cuando el animal incrementa el CMS pero reduce la emisión de CH₄ por unidad de consumo. Sin embargo, Blaxter y Clapperton (1965) mencionan que esta lógica no suele cumplirse con dietas de baja digestibilidad, por ello un incremento en el CMS no tendrá un efecto significativo en la emisión de CH₄ cuando es expresado como proporción del consumo. Generalmente, la reducción en la emisión de CH₄ por unidad de consumo se cumple cuando se suplementan con concentrados, incrementando así el nivel de carbohidratos solubles (Jiao *et al.* 2014). Perry *et al.* (2016), empleando cámaras respiratorias, también observaron que cuando se cambiaba de un pasto de baja calidad a un pasto de mediana calidad, el CMS se incrementaba, pero la emisión de CH₄ por unidad de consumo no se reducía.

La mayor emisión de CH₄ por animal y por unidad de consumo digerido (g CH₄/Kg CMSd; g CH₄/Kg CMOd) podría deberse a que los animales en la estación seca consumieron mayor cantidad de FDN (6.3 vs 6.9 Kg en la estación lluviosa y seca respectivamente). En el presente estudio el mayor CMS y CMO en la estación seca no significó una reducción en la emisión de CH₄ por unidad de consumo, sino que la calidad del pastizal fue más determinante

que el mayor CMS en la estación seca. Por lo tanto, podríamos afirmar que en pastizales de baja calidad el factor CMS no es determinante para reducir la emisión de CH₄.

En el presente estudio el porcentaje de energía pérdida como CH₄ (Y_m) en estación lluviosa (7.4%) y seca (8%) no tuvieron diferencias significativas. De acuerdo con Jhonson y Jhonson (1995) la pérdida de energía como CH₄ varía entre 2 a 12 por ciento de la EB. Sin embargo, estos valores son superiores a los sugeridos por el IPCC (2006) (6.5%) para ganado lechero en pastoreo. Kurihara *et al.* (1999) también encontraron que el factor de conversión de EB a CH₄ está fuera de los recomendados por la IPCC (2006). Lassey (2008) reportó que para un ganado al pastoreo con digestibilidades de 60-80% el valor de Y_m debería estar alrededor del 8%. Blaxter y Clapperton (1965) reportaron que a un nivel de alimentación para mantenimiento la pérdida de energía como CH₄ varía de 6.7 a 9.3 % de la EB ingerida con dietas que van desde 50 a 90% de digestibilidad. Por otro lado, Ominski *et al.* (2006) no encontraron diferencias en el porcentaje de energía perdida como CH₄ (Y_m) entre dietas que contenían entre 40 y 60% de FDN. Pero la pérdida puede llegar a ser hasta un 10.3% si las dietas están entre 10.3 a 50% de digestibilidad.

Los resultados de emisión de CH₄ entérico entre animales tuvieron variaciones entre 11 y 21% y entre un mismo animal variaciones entre 8 y 20% (Anexos 3 y 4). La técnica del trazador de SF₆ es una técnica que posee variaciones elevadas comparadas con cámaras respiratorias (Grainger *et al.* 2007; McGinn *et al.* 2006). Boadi y Wittenberg (2002) también encontraron variaciones de 26.9 and 27.1% en las mediciones diarias de CH₄ con la técnica del trazador de SF₆. Según Pinares-Patiño y Clark (2008) la alta variación podría deberse a la alta variación que existe entre las tasas de permeación de SF₆. En este sentido Martin *et al.* (2011) reportaron que se puede conseguir menores variaciones en las emisiones de CH₄ con tasas de permeación más pequeñas. Sin embargo, en el presente estudio obtuvimos tasas de permeación desde 3.4 mg hasta 6.5 mg SF₆/día.

A pesar de que en el estudio se empleó vacunos en lactación de primer parto la información del presente estudio puede emplearse para efectos de actualizar el inventario de gases de efecto invernadero (MINAM 2016), ya que, está demostrado que en un rango de 1 a 6 años no existen diferencias en cuanto a la emisión de CH₄ por unidad de consumo (Ramírez-Restrepo *et al.* 2015). No obstante, si es necesario estimar el CMS con bastante precisión debido a que es el principal factor a considerar para ajustar los factores de emisión (Jonker

et al. 2017). Además, para casos de inventarios la alta variabilidad que provee la técnica del trazador SF₆ en estudios controlados no es tan relevante porque la variación entre animales de una población es aún más grande (Ulyatt *et al.* 1999).

V. CONCLUSIONES

1. La emisión de CH₄ entérico (g/vaca/día) de vacas en lactación en pastizales altoandinos fue mayor (P<0.05) en la estación seca (257 g) que en la estación lluviosa (213 g).
2. La emisión de CH₄ entérico por unidad de consumo digerido (g/KgCMSd) de vacas en lactación en pastizales altoandinos fue superior (P<0.05) en la estación seca (46 g) que en la estación lluviosa (40 g).
3. La emisión de CH₄ entérico por kilogramo leche corregida a energía (g/kg LCE) de vacas en lactación en la estación lluviosa (69 g) fue inferior (P<0.05) a las vacas en lactación la estación seca (131 g).
4. El factor de conversión de energía bruta a CH₄ (Y_m) en vacunos en lactación en pastizales altoandinos fue 7.4, en la estación lluviosa y 8 %, en la estación seca, siendo ambos valores superiores a lo recomendado por el IPCC (6.5%) para este sistema.

VI. RECOMENDACIONES

1. Desarrollar una ecuación de regresión entre la digestibilidad y el nitrógeno fecal en pastizales altoandinos para mejorar la precisión en la predicción de la digestibilidad en sistemas altoandinos.
2. Medir la emisión de metano entérico en inicios de lluvia comparado con las estaciones de lluvias y seca para contrastar mejor las emisiones de metano entérico.
3. Evaluar estrategias alimenticias de mitigación de metano entérico en la estación seca, ya que, es la más crítica y donde hay oportunidad de reducir significativamente la intensidad de emisión.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUERRE, M., WATTIAUX, M., POWELL, J., BRODERICK, G., ARNDT, C. 2011. Effect of forage-to-concentrate ratio in dairy cow diets on emission of methane, carbon dioxide, and ammonia, lactation performance, and manure excretion. *Journal of Dairy Science*. 94: 3081-3093.

ALALUNA, E., VILLAGARCÍA, S. 2000. Evaluación del efecto de fertilización, aplicación de estiércol y absorción de elementos en el rendimiento de la secuencia papa-kiwicha, evaluado mediante la técnica del elemento faltante. *Revista Peruana de biología*. 7(2): 115-123.

ANDERSON, K., NAGARAJA, T., MORRILL, J., AVERY, T., GALITZER, S., BOYER, J. 1987. Ruminant microbial development in conventionally or early weaned calves. *Journal of Animal Science*. 64:1215-1226.

AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). 2005. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. The Association of Official Analytical Chemists.

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.

ARGOTE, G. 1999. Respuesta de la producción primaria, composición florística y valor nutritivo a la quema prescrita en pastizales dominados por *Calamagrostis antoniana* y *Festuca dolichophylla*. Tesis magister Scientiae. UNALM.

ASRM (AMERICAN SOCIETY OF RANGE MANAGEMENT AND AGRICULTURE BOARD). 1962. Basic Problems and Techniques in Range Research. Report of a Joint Committee of the American Society of Range management and Agriculture Board. 890: 45-81.

BANNINK, A., SCHIJNDEL, M., DIJKSTRA, J. 2010. A model of enteric fermentation in dairy cows to estimate methane emission for the Dutch National Inventory Report using the IPCC Tier 3 approach. *Journal of Agriculture Science*. 166–167: 603– 618.

BATISTA, C.; DETMANN, E.; NEVES, T.; AUGUSTO, M.; VALADARES, S. Y FONSECA, M. 2011. Evaluation of fecal recovering and long-term bias of internal and external markers in a digestion assay with cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 40(1):174-182.

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

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

BOADI, D., WITTENBERG, K. 2002. Methane production from dairy and beef heifers fed forages differing in nutrient density using the sulphur hexafluoride (SF₆) tracer gas technique. *Canadian Journal of Animal Science*. 82: 201-206.

BOJÓRQUEZ, N. 1994. Alimentación del ganado lechero en base a pasturas. UNMASM. IVITA, Huancayo.

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

BROWN, D., COLE, T., DAUNCEY, M., MARRS, R., MURGATROYD, P. 1984. Analysis of gaseous exchange in open-circuit indirect calorimetry. *Medicine Biology Enginier Comput*. 22: 333–338.

CHANCAYAURI, R. 1999. Dinámica de la producción primaria, composición florística y valor nutritivo de pastizales dominados por *Festuca dolichophylla* y *Calamagrostis vicunarum* en respuesta a la quema prescrita frontal. Tesis Universidad Nacional Agraria La Molina. 3-22.

CLARK, H. 2002. Ruminant methane emission measurements and estimates - from gut to globe. Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production. 62: 206-210.

CLOSE, W., MENKE, K. 1986. Selected topics in animal nutrition. A manual prepared for 2nd Hohenheim course on animal nutrition in the tropics and sub-tropics. P. 31-48.

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.

DEIGHTON, M., WILLIAMS, S., HANNAH, M., ECKARD, R., BOLAND, T., WALES, W., MOATE, P. 2014. A modified Sulphur hexafluoride tracer technique enables accurate determination of enteric methane emissions from ruminants. Animal Feed Science and Technology. 197: 47–63.

DEMARCHI, J., MANELLA, M., PRIMAVERESI, O., FRIGHETTO, R., ROMERO, L., BERNDT, A., LIMA, M. 2016. Effect of Seasons on Enteric Methane Emissions from Cattle Grazing *Urochloa brizantha*. Journal of Agricultural Science. 4 (8) : 106-115.

DEPPENMEIER, E. 2002. The unique biochemistry of methanogenesis. Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology. 71: 223-283.

DÍAZ, C. 2001. Efecto de la fertilización fosforada y variación estacional sobre el valor nutritivo de pasturas asociadas de rye grass (*Lolium perenne*) y tréboles (*Trifolium pratense* L. y *Trifolium repens* L.) en Pachacayo-Junin. Tesis Mg Sc. UNALM.

ELLIS, J., BANNINK, A., FRANCE, J., KEBREAB, E., DIJKSTRA, J. 2010. Evaluation of enteric methane prediction equations for dairy cows used in whole farm models. Global Change Biology. 16, 3246–3256.

ELLIS, J., KEBREAB, E., ODONDO, 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 (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). 2010. Greenhouse Gas Emissions from the Dairy Sector: A Life Cycle Assessment.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). 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. 1993. Naturaleza y uso de los pastos naturales. Boletín técnico. Programa de ovinos y camélidos Americanos. POCA-UNALM. Lima-Perú.

GARCÍA, G. 2018. Influencia de la revegetación con *Festuca humilior* y la incorporación de fertilizantes en la recuperación de pastizales degradados. Tesis Magister Scientiae. UNALM.

GLINDEMANN, T., TAS, B., WANG, C., ALVERS, S., SUSENBETH, A. 2009a. Evaluation of titanium dioxide as an inert marker for estimating faecal excretion in grazing sheep. *Animal Feed Science and Technology*. 152:186-197.

GLINDEMANN, T., WANG, C., TAS, B., SCHIBORRA, A., GIERUS, M., TAUBE, F., SUSENBETH, A. 2009b. Impact of grazing intensity on herbage intake, composition, and digestibility and on live weight gain of sheep on the Inner Mongolian steppe. *Livestock Science*. 124: 142–147.

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., DIJKSTRAC, J., YÁNEZ-RUIZ, D., O'KIELYE, P., KEBREABF, E., EUGÈNE, 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.

HAMMOND, K., MUETZEL, S., WAGHORN, G., PINARES-PATINO, C., BURKE, J., HOSKIN, S. 2009. The variation in methane emissions from sheep and cattle is not explained by the chemical composition of ryegrass. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*. 69: 174-178.

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.

HARTTER, J., HAMILTON, L., BOAGA, A., STEVENS, F., DUCEY, M., CHRISTOFFERSEN, N., OESTERG, P., PALACE, M. 2018. Does it matter if people think climate change is human caused? *Climate Services*. 10: 53-62

HILL, J., MCSWEENEY, C., WRIGHT, A., BISHOP-HURLEY, G., KALANTAR-ZADEH, K. 2015. Measuring Methane Production from Ruminants. *Trends in Biotechnology*. 1309: 1-10.

INEI (INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA E INFORMÁTICA). 2013. IV Censo Nacional Agropecuario (IV CENAGRO). www.inei.gob.pe.

IPCC (INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE). 1996. Tecnologías, políticas y medidas para mitigar el cambio climático. Documento técnico I.

IPCC (INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE). 1997. Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. Intergovernmental Panel on Climate Change, Bracknell, UK.

IPCC (INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE). 2006. Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. Chapter 10: Emissions from Livestock and Manure Management. www.ipcc.ch

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

JASTROW, R., NIERENBERG, W., SEITZ F. 1991. GLOBAL WARMING: WHAT DOES THE SCIENCE TELL US? *Journal of Energy*. 11 (16): 1331-1345.

JIAO, H., DALE, A., CARSON, A., MURRAY, S., GORDON, A., FERRIS, C. 2014. Effect of concentrate feed level on methane emissions from grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 97:7043–7053.

JOHNSON, D., FERRELL, C., JENKINS, T. 2003. The history of energetic efficiency research: Where have we been and where are, we going? *Journal of Animal Science*. 81, 27–38.

JOHNSON, K., HUHLER, 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., 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*. 57: 643–648.

KESSEL, D. 2000. Global warming - facts, assessment, countermeasures. *Journal of Petroleum Science and Engineering*. 26: 157–16.

KNAPP, J., LAUR, G., VADAS, P., WEISS, W., TRICARICO, J. 2014. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *Journal of Dairy Science*. 97: 3231–3261.

KNIGHT, T., MOLANO, G, CLARK, H., CAVANGH, A. 2008. Methane emissions from weaned lambs measured at 13, 17, 25 and 35 weeks of age compared with mature ewes consuming a fresh forage diet. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 48 : 240–243.

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

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

LASSEY, K. 2008. Livestock methane emission and its perspective in the global methane cycle. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 48: 114-118.

LASSEY, K., PINARES-PATIÑO, C., MARTIN, R., MOLANO, G., MCMILLAN, A. 2011. Enteric methane emission rates determined by the SF₆ tracer technique: Temporal patterns and averaging periods. *Animal Feed Science Technology*. 166–167, 183–191.

LASSEY, K., ULYATT, M., MARTIN, R., WALKER, C., SHELTON, I. 1997. Methane emissions measured directly from grazing livestock in New Zealand. 18(31): 2905-2914.

LENG, R., KUNJU, P. 1993. 'A New Approach on Protein Nutrition for Ruminants.' (NDDB: Anand, India.). 15: 2-22.

LESTER, D., GREENBERG, L. 1950. The toxicity of sulfur hexafluoride. *Archives of Industrial Hygiene and Occupational Medicine*. 2: 348–349.

LIU, Z., LIU, Y., SHI, X., WANG, J., MURPHY, J., MAGHIRANG, R. 2017. Enteric Methane Conversion Factor for Dairy and Beef Cattle: Effects of Feed Digestibility and Intake Level. *American Society of Agricultural and Biological Engineers*. 60(2): 1-6.

LUKAS, M., SU^W DEKUM, K., RAVE, G., FRIEDEL, K., SUSENBETH, A. 2015. Relationship between fecal crude protein concentration and diet organic matter digestibility in cattle. *Journal of Animal Science*. 83:1332–1344.

MARTIN, C., KOOLAARD, J., ROCHETTE, Y., CLARK, H., JOUANY, J., PINARES-PATIÑO, C. 2011. Effect of release rate of the SF₆ tracer on methane emission estimates based on ruminal and breath gas samples. *The Animal Consortium* 2011. 6: (3) 518–525.

MCALLISTER, T., NEWBOLD, C. 2008. Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 48: 7-13.

MCGINN, S., BEAUCHEMIN, K., IWAASA, A., MCALLISTER, T. 2006. Assessment of the Sulfur Hexafluoride (SF₆) Tracer Technique for Measuring Enteric Methane Emissions from Cattle. *Journal of Environmental Quality*. 35:1686–1691.

MINAM (MINISTERIO DEL AMBIENTE). 2015. CONTRIBUCIÓN PREVISTA Y DETERMINADA A NIVEL NACIONAL (INDC) DE LA REPÚBLICA DEL PERÚ. Ministerio del Ambiente. www.minam.gob.pe.

MINAM (MINISTERIO DEL AMBIENTE). 2016. Informe técnico. Inventario Nacional de Gases de Efecto Invernadero con año base 2012 (INGEI 2012). Ministerio del Ambiente. www.minam.gob.pe.

MINITAB 18 STATISTICAL SOFTWARE (2017). [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.

MOLANO, G., CLARK, H. 2008. The level of intake and forage quality on methane production by sheep. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 48, 219–225.

MORGAVI, D., FORANO, E., MARTIN, C., NEWBOLD, C. 2010. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *The Animal Consortium* 2010. 4(7): 1024–1036.

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. *Rev. Inv. Vet. Perú.* 28(4): 822-833.

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.

MYERS, W., LUDDEN, P., NAYIGIHUGU, V., HESS, B. 2006. Excretion patterns of titanium dioxide and chromic oxide in duodenal digesta and feces of ewes. *Small Ruminant Research.* 63: 135–141.

NEGUSSIE, E., DE HAAS, Y., DEHARENG, F., DEWHURST, R., DIJKSTRA, J., GENGLER, N., MORGAVI, D., SOYEURT, H., VAN GASTELEN, S., YAN, T., BISCARINI, F. 2017. Invited review: Large-scale indirect measurements for enteric methane emissions in dairy cattle: A review of proxies and their potential for use in management and breeding decisions. *Journal of Dairy Science.* 100:1–21.

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

OKELLY, J., SPIERS, W. 1992. Effect of monensin on methane and heat productions of steers fed lucerne hay either ad-libitum or at the rate of 250 g/hour. *Australian Journal of Agriculture.* (43), 1789–1793.

OMINSKI, K., BOADI, D., WITTENBERG, K. 2006. Enteric methane emissions from backgrounded cattle consuming all-forage diets. *Canadian Journal of Animal Science.* 393-400.

PERRY, L., AL JASSIM, R., GAUGHAN, J., TOMKINS, N. 2016. Effect of feeding forage characteristic of wet- or dry-season tropical C4 grass in northern Australia, on methane production, intake and rumen outflow rates in *Bos indicus* steers. *Animal Production Science.* A-H.

PINARES-PATIÑO, C., CLARK, H. 2008. Reliability of the sulphur hexafluoride tracer technique for methane emission measurement from individual animals: an overview. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 48, 223–229.

PINARES-PATIÑO, C., CLARK, H. 2010. Rumen function and digestive parameters associated with methane emissions in dairy cows. *Proceedings of the 4th Australasian Dairy Science Symposium 2010*. 86-93.

PINARES-PATIÑO, C., D' HOUR, P., JOUANY, J., MARTIN, C. 2007. Effects of stocking rate on methane and carbon dioxide emissions from grazing cattle. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 121: 30–46.

PINARES-PATIÑO, C., ULYATT, M., LASSEY, K., BARRY, T., HOLMES, C. 2003. Rumen function and digestion parameters associated with differences between sheep in methane emissions when fed chaffed lucerne hay. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*. 140, 205–14.

PINARES-PATIÑO, C., WAGHORN, G., HEGARTY, R., HOSKIN, S. 2009. Effects of intensification of pastoral farming on greenhouse gas emissions in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*. 57(5): 252-261.

POLLEY, W., BRISKE, D., MORGAN, J., WOLTER, K., BAILEY, D., BROWN, J. 2013. Climate Change and North American Rangelands: Trends, Projections, and Implications. *Rangeland Ecol Manage*. 66:493–511.

RAMÍREZ-RESTREPO, A., CLARK, H., MUETZEL, S. 2015. Methane emissions from young and mature dairy cattle. *Animal Production Science*. 15: 102-112.

RICCI, P., ROOKE, J., NEVISON, I., WATERHOUSE, A. 2014. Methane emissions from beef and dairy cattle: Quantifying the effect of physiological stage and diet characteristics. *Journal of Animal Science*. 91: 5379–5389.

RICHMOND, A., WYLIE, A., LAIDLAW, A., LIVELY, F. 2015. Methane emissions from beef cattle grazing on semi-natural upland and improved lowland grasslands. *The Animal Consortium 2014*. 9: (1) 130–137.

RODRÍGUEZ, N. 1984. Determinación del valor nutritivo de las Principales especies de los pastizales naturales de la SAIS Pachacutec en cinco eventos fenológicos. Tesis Universidad Nacional Agraria La Molina. 35-45.

TOMKINS, N., DENMAN, S., PILAJUNC, R., WANAPATC, M., MCSWEENEY, C., ELLIOTT, R. 2015. Manipulating rumen fermentation and methanogenesis using an essential oil and monensin in beef cattle fed a tropical grass hay. *Animal Feed Science and Technology*. 200: 25–34.

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

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: 217-226.

URIBE, J. 2008. Producción y composición lechera de vacunos en diferentes épocas del año pastoreando en una asociación Rye grass-Dactylis-Trebol en la sierra central. Tesis Mg Sc. UNALM.

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 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.

VARGAS, J., CÁRDENAS, E., PABÓN, M., CARULLA, J. 2012. Emisión de Metano Entérico en Rumiantes en Pastoreo. *Arch. Zootec.* 61 (R): 51-66.

VIGO, J. 1973. Valor nutritivo del Rye grass (Género Lolium) y Trébol blanco (*Trifolium repens*) en pasturas asociadas en Cajamarca. Tesis Universidad Nacional Agraria La Molina.

WANG, C., TAS, B., GLINDEMANN, T., RAVE, G., SCHMIDT, L., WEISSBACH, F., SUSENBETH, A. 2009. Fecal crude protein content as an estimate for the digestibility of forage in grazing sheep. *Animal Feed Science Technologies*. 149, 199–208.

WANG, X., ZHANG, Y., HUANG, D., LI, Z., ZHANG, X. 2015. Methane uptake and emissions in a typical steppe grazing system during the grazing season. *Atmospheric Environment*. 105: 14-21.

WESTBERG, H., JOHNSON, K., COSSALMAN, M., MICHAL, J. 1998. A SF₆ tracer technique: methane measurement from ruminants. *Revista Relatório*. Pullman-Washington: Washington State University, 40p.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Características de los animales experimentales durante la estación lluviosa

Código experimental	Nombre de vaca	Fecha de Nacimiento	Edad (años)	Nº Partos	Días en lactación	Peso vivo inicial (kg)
V1	Pancha	03/10/2014	2.5	1	40	455
V2	Teche	04/07/2014	2.8	1	71	355
V3	Romina	23/08/2014	2.6	1	29	396
V4	Gisela	06/02/2014	3.2	1	59	415
V5	Sofia	07/12/2014	2.3	1	80	366
V6	Nelly	29/05/2013	3.9	1	48	511
V7	Margaret	16/12/2013	3.3	1	91	497
V8	Rosa	03/04/2014	3.0	1	88	448
V9	Ely	04/02/2014	3.2	1	36	366
V10	Tania	12/10/2013	3.5	1	85	391
V11	Peque	18/11/2014	2.4	1	75	455
V12	Adela	04/02/2015	2.2	1	48	366

Anexo 2: Características de los animales experimentales durante la estación seca

Código experimental	Nombre de vaca	Fecha de Nacimiento	Edad (años)	Nº Partos	Días en lactación	Peso vivo inicial (kg)
V1	Pancha	03/10/2014	2.9	1	180	455
V2	Teche	04/07/2014	3.1	1	211	355
V3	Romina	23/08/2014	3.0	1	169	396
V4	Gisela	06/02/2014	3.6	1	199	415
V5	Sofia	07/12/2014	2.7	1	220	366
V6	Nelly	29/05/2013	4.2	1	188	511
V7	Margaret	16/12/2013	3.7	1	231	497
V8	Rosa	03/04/2014	3.4	1	228	448
V9	Ely	04/02/2014	3.6	1	176	366
V10	Tania	12/10/2013	3.9	1	225	391
V11	Peque	18/11/2014	2.8	1	215	455
V12	Adela	04/02/2015	2.6	1	188	366

Anexo 3: Emisiones de CH₄ entérico (g/vaca/día) de vacunos en lactación en pastizales altoandinos en la estación seca.

Vaca	Días (Agosto)							Promedio	Desv. Estándar	Variación
	1	2	3	4	5	6	7			
1	237.2	197.3	198.9	170.8	172.1	267.8	193.5	205.4	35.2	17.2
2	212.9	187.7	263.0	176.8	208.8	234.4	227.7	215.9	29.1	13.5
3	328.0	365.3	360.2	327.2	293.7	341.6	349.0	337.9	24.3	7.2
4	258.9	255.2	262.7	195.5	231.3	201.7	264.7	238.6	29.5	12.4
5	246.5	248.6	277.4	267.9	295.2	253.9	238.6	261.2	20.0	7.7
6	288.6	248.9	229.5	194.6	262.5	234.3	262.0	245.8	30.0	12.2
7	215.2	276.4	227.9	226.7	243.4	261.4	255.0	243.7	21.8	9.0
8	323.5	291.7	350.0	220.7	221.5	254.8	255.7	274.0	49.7	18.1
9	199.2	220.0	194.5	205.3	250.8	243.9	256.2	224.3	25.8	11.5
10	283.9	257.6	173.4	196.8	193.9	244.9	279.0	232.8	44.4	19.1
11	313.7	389.0	316.3	374.2	372.8	398.9	391.0	365.1	35.5	9.7
12	242.7	232.7	207.6	234.8	223.5	213.8	283.3	234.1	24.9	10.6
Promedio	262.5	264.2	255.1	232.6	247.5	262.6	271.3	256.5		
Desv. Estándar	44.5	60.7	61.5	61.9	53.9	55.0	52.6			
Variación	17.0	23.0	24.1	26.6	21.8	21.0	19.4			

Anexo 4: Emisiones de CH₄ entérico (g/vaca/día) de vacunos en lactación en pastizales altoandinos en la estación lluviosa.

VACA	Días (Abril)							Promedio	Desv. Estándar	Variación
	1	2	3	4	5	6	7			
1	225.7	178.0	243.9	227.1	173.8	220.9	188.8	208.3	27.59	13.24
2	161.1	233.4	172.2	170.8	120.7	156.9	193.2	172.6	34.62	20.06
3	230.5	222.2	245.2	258.1	182.2	258.4	251.1	235.4	27.13	11.53
4	175.0	209.1	224.7	220.8	202.7	211.9	196.5	205.8	16.70	8.12
5	229.4	234.3	222.1	206.7	193.1	259.5	212.2	222.5	21.53	9.68
6	181.2	265.1	248.3	219.0	211.3	255.4	177.7	222.6	35.17	15.80
7	203.5	197.2	217.2	205.0	210.5	281.4	240.3	222.1	29.60	13.33
8	240.8	219.3	248.1	207.6	251.8	188.7	225.6	226.0	22.92	10.14
9	144.3	163.5	203.8	210.2	207.4	192.5	185.7	186.8	24.63	13.19
10	253.5	261.2	238.9	243.9	213.7	209.3	220.8	234.5	20.17	8.60
11	249.0	250.0	279.4	227.7	202.0	230.6	266.2	243.6	25.87	10.62
12	188.5	185.2	183.1	180.4	185.2	177.2	166.4	180.9	7.33	4.05
Promedio	206.9	218.2	227.2	214.8	196.2	220.2	210.4	213.4		
Desv. Estándar	36.4	32.7	30.2	24.2	31.0	38.0	31.0			
Variación	17.6	15.0	13.3	11.3	15.8	17.3	14.7			

Anexo 5: Medio para la prueba de producción de gas del laboratorio del Instituto de Nutrición Animal de la Universidad 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
Solución reductora			
Sodium sulphite			625 mg
Sodium hydroxide		1 M	4 ml
Volumen Total		enrasar con dH ₂ O	100 ml

Anexo 6: Concentración de TiO₂ (gTiO₂/gMO heces) de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.

Vaca	Estación	
	Lluviosa	Seca
V1	0.0081	0.0060
V2	0.0095	0.0090
V3	0.0066	0.0056
V4	0.0066	0.0048
V5	0.0067	0.0068
V6	0.0065	0.0046
V7	0.0071	0.0065
V8	0.0065	0.0046
V9	0.0087	0.0073
V10	0.0070	0.0063
V11	0.0056	0.0047
V12	0.0091	0.0069

Anexo 7: Dosis de TiO₂ (g/vaca/día) a vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.

Vaca	Estación	
	Lluviosa	Seca
V1	25.0	25.3
V2	25.0	25.0
V3	25.1	25.0
V4	25.1	25.0
V5	25.0	25.0
V6	24.6	25.0
V7	25.0	25.0
V8	25.2	25.0
V9	25.0	25.0
V10	24.9	25.0
V11	25.1	25.0
V12	25.0	25.0

Anexo 8: Digestibilidad de la MO (%) de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.

Vaca	Estación	
	Lluviosa	Seca
V1	61.51	59.93
V2	64.29	61.81
V3	61.22	61.37
V4	63.72	59.65
V5	63.08	60.68
V6	62.19	57.70
V7	62.48	59.28
V8	60.89	58.58
V9	61.67	61.17
V10	62.64	58.42
V11	63.75	60.25
V12	63.11	59.12

Anexo 9: Consumo de materia orgánica (KgMO/vaca/día) de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.

Vaca	Estación	
	Lluviosa	Seca
V1	7.5	9.8
V2	7.0	6.8
V3	9.2	10.8
V4	9.9	12.2
V5	9.5	8.9
V6	9.4	12.0
V7	8.9	8.9
V8	9.3	12.3
V9	7.1	8.3
V10	9.0	9.0
V11	11.6	12.5
V12	7.0	8.4

Anexo 10: Consumo de materia seca (KgMS/vaca/día) de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.

Vaca	Estación	
	Lluviosa	Seca
V1	8.0	10.2
V2	7.3	7.1
V3	9.7	11.3
V4	10.5	12.7
V5	10.1	9.2
V6	9.9	12.5
V7	9.4	9.3
V8	9.9	12.8
V9	7.5	8.7
V10	9.5	9.4
V11	12.2	13.0
V12	7.4	8.7

Anexo 11: Consumo de materia seca expresado como porcentaje del PV (%PV) de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.

Vaca	Estación	
	Lluviosa	Seca
V1	1.8	2.3
V2	2.1	1.7
V3	2.5	2.7
V4	2.5	2.3
V5	2.7	2.5
V6	1.9	2.1
V7	1.9	1.9
V8	2.2	2.5
V9	2.0	2.5
V10	2.4	2.3
V11	2.7	2.7
V12	2.0	2.5

Anexo 12: Consumo de FDN (kg/vaca/día) de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.

Vaca	Estación	
	Lluviosa	Seca
V1	5.4	6.8
V2	5.0	4.7
V3	6.6	7.4
V4	7.1	8.4
V5	6.8	6.1
V6	6.7	8.3
V7	6.4	6.1
V8	6.7	8.4
V9	5.0	5.7
V10	6.4	6.2
V11	8.3	8.6
V12	5.0	5.8

Anexo 13: Consumo de Proteína Cruda (kg PC/vaca/día) de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.

Vaca	Estación	
	Lluviosa	Seca
V1	0.9	0.7
V2	0.8	0.5
V3	1.1	0.8
V4	1.2	0.9
V5	1.1	0.7
V6	1.1	0.9
V7	1.0	0.7
V8	1.1	0.9
V9	0.8	0.6
V10	1.0	0.7
V11	1.3	0.9
V12	0.8	0.6

Anexo 14: Producción de leche (kg) de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca.

Vaca	Estación	
	Lluviosa	Seca
V1	2.8	2.4
V2	3.1	1.5
V3	2.9	2.1
V4	3.1	1.7
V5	3.7	2.8
V6	2.7	1.7
V7	3.9	1.8
V8	3.3	1.9
V9	3.4	2.0
V10	3.4	2.9
V11	2.7	2.1
V12	2.7	1.5

Anexo 15: Jeringas de incubación en baño María (39°C)-Prueba de la producción de gases de la Universidad de Hohenheim.



Anexo 16: Directrices del IPCC (2006) para el nivel 2.

- a) El primer paso es calcular los requerimientos energéticos para 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° : temperatura diaria media en $^\circ\text{C}$; PV: peso vivo del animal en kilogramos.

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

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

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

- b) 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.

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

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

- d) 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 CH_4).

Anexo 17: Prueba de T pareada para el consumo de materia seca (CMS).

Estimación de la diferencia pareada			
Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
-1.137	1.241	0.358	(-1.926, -0.348)

diferencia_μ: media de (CMSrainy - CMSdry)

Prueba de T pareada
 Hipótesis nula $H_0: \text{diferencia}_\mu = 0$
 Hipótesis alterna $H_1: \text{diferencia}_\mu \neq 0$

Valor T	Valor p
-3.17	0.009

Anexo 18: Prueba de T pareada para el CMS como %PV.

Estimación de la diferencia pareada			
Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
-0.1121	0.3059	0.0883	(-0.3065, 0.0822)

diferencia_μ: media de (%pvrainy - %pvdry)

Prueba de T pareada
 Hipótesis nula $H_0: \text{diferencia}_\mu = 0$
 Hipótesis alterna $H_1: \text{diferencia}_\mu \neq 0$

Valor T	Valor p
-1.27	0.230

Anexo 19: Prueba de T pareada para el consumo de materia orgánica (CMO).

Estimación de la diferencia pareada

Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
-1.222	1.194	0.345	(-1.981, -0.464)

diferencia_μ: media de (CMOrainy - CMODry)

Prueba de T pareada

Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0
 Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
-3.55	0.005

Anexo 20: Prueba de T pareada para el consumo de proteína cruda (CPC).

Estimación de la diferencia pareada

Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
0.2654	0.1028	0.0297	(0.2001, 0.3307)

diferencia_μ: media de (CPCrainy - CPCdry)

Prueba de T pareada

Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0
 Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
8.94	0.000

Anexo 21: Prueba de T pareada para el consumo de FDN (CFDN).

Estimación de la diferencia pareada			
Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
-0.594	0.818	0.236	(-1.114, -0.074)

diferencia_μ: media de (CFDNrainy - CFDNdry)

Prueba de T pareada

Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0
 Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
-2.51	0.029

Anexo 22: Prueba de T pareada para la digestibilidad.

Estimación de la diferencia pareada			
Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
0.02716	0.01491	0.00431	(0.01768, 0.03663)

diferencia_μ: media de (DIGMOrainy - DIGMOdry)

Prueba de T pareada

Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0
 Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
6.31	0.000

Anexo 23: Prueba de T pareada para la producción de leche (kg).

Estimación de la diferencia pareada			
		Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
Media	Desv.Est.		
1.204	0.638	0.213	(0.714, 1.695)

diferencia_μ: media de (PXLECHE_rainy - PXLECHE_dry)

Prueba de T pareada

Hipótesis nula $H_0: \text{diferencia}_\mu = 0$

Hipótesis alterna $H_1: \text{diferencia}_\mu \neq 0$

Valor T	Valor p
5.66	0.000

Anexo 24: Prueba de T pareada para la producción de grasa (g/día).

Estimación de la diferencia pareada			
		Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
Media	Desv.Est.		
-9.06	16.22	5.41	(-21.53, 3.40)

diferencia_μ: media de (PXgrasa_rainy - PXgrasa_dry)

Prueba de T pareada

Hipótesis nula $H_0: \text{diferencia}_\mu = 0$

Hipótesis alterna $H_1: \text{diferencia}_\mu \neq 0$

Valor T	Valor p
-1.68	0.132

Anexo 25: Prueba de T pareada para el % de grasa (%).

Estimación de la diferencia pareada			
Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
-0.522	0.480	0.160	(-0.891, -0.153)

diferencia_μ: media de (%grasa_rainy - %grasa_dry)

Prueba de T pareada
 Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0
 Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
-3.26	0.011

Anexo 26: Prueba de T pareada para solidos totales (%).

Estimación de la diferencia pareada			
Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
-0.164	0.695	0.232	(-0.699, 0.370)

diferencia_μ: media de (ST_rainy - ST_dry)

Prueba de T pareada
 Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0
 Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
-0.71	0.499

Anexo 27: Prueba de T pareada para solidos no grasos (%).

Estimación de la diferencia pareada			
Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
0.358	0.807	0.269	(-0.262, 0.978)

diferencia_μ: media de (SNG_rainy - SNG_dry)

Prueba de T pareada

Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0
 Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
1.33	0.220

Anexo 28: Prueba de T pareada para LCE (kg).

Estimación de la diferencia pareada			
Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
1.204	0.638	0.213	(0.714, 1.695)

diferencia_μ: media de (pxlecherainy - pxlechedry)

Prueba

Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0
 Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
5.66	0.000

Anexo 29: Prueba de T pareada para emisiones de metano entérico (g/vaca/día).

Estimación de la diferencia pareada			
Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
-43.1	36.9	10.6	(-66.6, -19.7)

diferencia_μ: media de (rainy - dry)

Prueba de T pareada

Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0

Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
-4.05	0.002

Anexo 30: Prueba de T pareada para emisiones de metano entérico por unidad de PV (g/kgPV).

Estimación de la diferencia pareada			
Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
-0.0729	0.1001	0.0289	(-0.1365, -0.0093)

diferencia_μ: media de (CH4/kgPV_rainy - CH4/kgPV_dry)

Prueba de T pareada

Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0

Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
-2.52	0.028

Anexo 31: Prueba de T pareada para emisiones de metano entérico por unidad de consumo de MS consumida (g/kgMS).

Estimación de la diferencia pareada			
Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
-1.80	4.35	1.26	(-4.56, 0.97)

diferencia_μ: media de (gch4/kgmsrainy - gch4/kgmsdry)

Prueba de T pareada

Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0

Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
-1.43	0.180

Anexo 32: Prueba de T pareada para emisiones de metano entérico por unidad de consumo de MO consumida (g/kgMO).

Estimación de la diferencia pareada			
Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
-1.51	4.54	1.31	(-4.40, 1.37)

diferencia_μ: media de (gch4/kgmorainy - gch4/kgmodry)

Prueba de T pareada

Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0

Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
-1.15	0.273

Anexo 33: Prueba de T pareada para emisiones de metano entérico por unidad de consumo de MS digestible (g/kgMSd).

Estimación de la diferencia pareada

Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
-5.83	7.77	2.24	(-10.77, -0.89)

diferencia_μ: media de (gch4/kgmsrainy_dig - gch4/kgmsdry_dig)

Prueba de T pareada

Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0

Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
-2.60	0.025

Anexo 34: Prueba de T pareada para emisiones de metano entérico por unidad de consumo de MO digestible (g/kgMOb).

Estimación de la diferencia pareada

Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
14.736	1.690	0.488	(13.662, 15.810)

diferencia_μ: media de (gch4/kgmorainy_dig - gch4/kgmorainy)

Prueba de T pareada

Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0

Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
30.20	0.000

Anexo 35: Prueba de T pareada para emisiones de metano entérico por unidad de FDN (g/kg FDN).

Estimación de la diferencia pareada			
Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
-3.60	6.57	1.90	(-7.77, 0.57)

diferencia_μ: media de (gch4/kgFDNRAINY - gch4/kgFDNDRY)

Prueba de T pareada

Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0

Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
-1.90	0.084

Anexo 36: Prueba de T pareada para emisiones de metano entérico por unidad de LCE (g/kgLCE).

Estimación de la diferencia pareada			
Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
-62.34	28.94	8.35	(-80.72, -43.95)

diferencia_μ: media de (ch4/kglecherrainy - ch4/kglechedy)

Prueba de T pareada

Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0

Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
-7.46	0.000

Anexo 37: Prueba de T pareada para Ym (%).

Estimación de la diferencia pareada

Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95% para la diferencia_μ
-0.647	1.396	0.403	(-1.535, 0.240)

diferencia_μ: media de (ymrainy - ymdry)

Prueba de T pareada

Hipótesis nula H_0 : diferencia_μ = 0
Hipótesis alterna H_1 : diferencia_μ ≠ 0

Valor T	Valor p
-1.61	0.137