

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN NUTRICIÓN



**“EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO EN OVINOS
ALIMENTADOS CON RACIONES DE DIFERENTE NIVEL DE
ENERGÍA”**

Presentada por:

MELIZA JACQUELINE VILLAR ESTRADA

**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 EN OVINOS ALIMENTADOS
CON RACIONES DE DIFERENTE NIVEL DE ENERGÍA”**

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

Presentada por:

MELIZA JACQUELINE VILLAR ESTRADA

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ph.D. Víctor Guevara Carrasco
PRESIDENTE

Ph.D. Carlos Gómez Bravo
PATROCINADOR

Ph.D. Javier Ñaupari Vásquez
CO- PATROCINADOR

Mg.Sc. Víctor Hidalgo Lozano
MIEMBRO

Ph.D. Mariano Echevarría Rojas
MIEMBRO

DEDICATORIA

*A mis amados padres:
Quienes hicieron de mi todo
Lo soy con mucho esfuerzo,
Sacrificio y amor.*

*A mis queridos hermanos James y
Nancy por su invalorable
Apoyo brindado.*

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Carlos Gómez Bravo, patrocinador de este trabajo, por su valiosa colaboración y consejos.

Al Concejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC) por la subvención económica dentro del marco del proyecto de becas de maestría en Universidades Peruanas.

Al Dr. Javier Ñaupari y Dr. Christian Barrantes bravo, por su valiosa ayuda y desinteresada amistad.

Al Ing. Esteban Mixán Vargas por su gran ayuda.

Al Mg. Sc. Jorge Vargas Morán, por permitirnos trabajar en las instalaciones del laboratorio de Tecnología de alimentos.

A Mg. Sc. José Haro. por su orientación y ayuda.

Al instituto de cooperación para la agricultura IICA y proyecto FONTAGRO por su colaboración técnica y financiera.

Al Mg. Sc. Medardo Díaz Céspedes por su aporte valioso durante la toma de muestras y evaluación de estas.

A mis compañeros de trabajo del Laboratorio de Referencia Nacional de Zoonosis Bacteriana del Centro Nacional de Salud Pública- Instituto Nacional de Salud y en especial a mi jefe Blgo. John Calderón por su incondicional amistad, aliento y gran apoyo.

A mis grandes amigos Carmen Astuvilca, Lizbeth Hidalgo, Víctor Temoche, Cinthya Cabrejos, Fritz Trillo, Raúl Tacuna y a todos los que de una u otra forma han colaborado para la realización y culminación de este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

Pág.

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1.	Calentamiento global y producción de metano por los rumiantes	2
2.2.	Emisiones de GEI y la importancia de conocer factores de emisión (Y _m) para los inventarios de emisiones de metano en el Perú.....	3
2.3.	Producción de metano entérico y factores que afectan su emisión	5
2.4.	Perdida energética y económica	9
2.5.	Estrategias de mitigación	10
2.6.	Métodos para medir y estimar la emisión de metano (CH ₄) en los rumiantes	12
2.7.	Medición de metano entérico usando la Técnica trazador SF ₆	13
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1.	Lugar y duración	15
3.3.	Instalaciones y equipos.....	16
3.4.1.	Ración de la etapa pre-experimental	17
3.4.2.	Raciones de la etapa experimental	17
3.5.	Distribución de los tratamientos.....	18
3.5.1.	Mediciones en el alimento.....	19
3.5.2.	Etapa pre-experimental.	19
3.5.4.	Evaluación de los animales	21
3.5.5.	Análisis de laboratorio	23
3.5.5.1.	Composición Química del alimento	23
3.6.1.1.	Tubos de Permeación y su pre-calibración.....	25
3.6.1.2.	Construcción de Línea de flujo	26
3.6.1.3.	Construcción Cánister	27
3.6.1.4.	Adaptación de los animales experimentales.....	27
3.6.1.5.	Cálculo de emisiones de metano	27
3.6.1.6.	Colección de CH ₄ y SF ₆ encampo.....	28
3.6.1.7.	Colección de CH ₄ y SF ₆ en laboratorio	28
3.6.1.8.	Cromatografía de gases	29
3.7.	Procedimiento experimental.....	32
3.8.	Análisis estadístico.....	33
3.8.1.	Identificación de variables	33

IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
4.1.	Mediciones en el Alimento	35
4.1.1.	Valor nutritivo de la ración de los cuatro periodos	35
4.2.1.	Consumo de materia seca.....	36
4.2.2.	Consumo de materia seca (CMS).....	37
4.2.3.	Ganancia de peso.....	37
4.3.1.	Emisión de metano /día (g CH ₄ /día).....	39
4.3.2.	Emisión de metano por kg de materia seca consumida (g CH ₄ /día)	41
4.3.3.	Emisión de metano/kg MS digerida	43
4.3.4.	Energía perdida en forma de metano.....	44
4.3.5.	Producción de CH ₄ como % de la EB ingerida Ym (%)	44
V.	CONCLUSIONES.....	47
VI.	RECOMENDACIONES.....	48
VI.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
VI.	ANEXOS	62

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1: Raciones experimentales (porcentaje).....	18
Cuadro 2: Contenido nutricional de las raciones experimentales (Base seca)	18
Cuadro 3: Análisis proximal de las raciones con alto nivel de energía (T1) con 50% de carbohidratos no estructurales y ración con bajo nivel de energía (T2) con 30% de carbohidratos no estructurales.....	19
Cuadro 4: Secuencia experimental con respecto a la dieta y recojo de muestras.....	32
Cuadro 5: Distribución de los tratamientos.....	33
Cuadro 6: Porcentaje de digestibilidad por tratamiento	36
Cuadro 7: Consumo y ganancia de peso en los cuatro periodos experimentales	36
Cuadro 8: Emisión de metano entérico promedio en ovinos.....	38
Cuadro 9: Intensidad de medición.....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Metanogénesis ruminal	7
Figura 2: Metabolismo de carbohidratos en el rumen	9
Figura 3: Animales separados en jaulas individuales.....	19
Figura 4: Bolsas de colección de heces colocadas en el animal por 24 horas.....	22
Figura 5:Entrenamiento de los animales con el equipo de colección.....	24
Figura 6: A la derecha estufa de aire forzado a 39 °C y a la izquierda el peso de las capsulas de permeación	24
Figura 7: Tasa de permeación (4.3 mg/día) del tubo #7 calibrada durante 90 días.....	27
Figura 8: CAP100; Vástago de conexión rápida, unión reductora, tubo capilar de 100 cm, unión reductora, filtro de partículas de 15 m, tubo de muestreo. (Deighton, M.H. et al. 2014).....	26
Figura 9: línea de flujo puesta en el animal colectando gas por el lapso de 24 horas	31
Figura 10: al a derecha retiro del canister y lectura de la presión final, al cabo de24 horas de colección y ala izquierda submuestreo de gases en viales de 20ml	31
Figura 11: viales de 20ml conservados en refrigeración.....	32
Figura 12: Porcentaje digestibilidad de la materia seca consumida en los cuatro periodos.....	35
Figura 13 Ganancia de peso /día en los cuatro periodos	40
Figura 14: Emisión de CH ₄ (g CH ₄ /día)	40
Figura 15: Emisión de metano por kg de materia seca consumida /día (g CH ₄ /día).....	41
Figura 16: Perdida energética en los cuatro periodos evaluados con las dos raciones (T1:50% Carbohidratos no estructurales, T2:30% Carbohidratos no estructurales)	44
Figura 17: Porcentaje de perdida energética en los cuatro periodos evaluados con las dos raciones (T1:50% Carbohidratos no estructurales, T2:30% Carbohidratos no estructurales).....	45
Figura 18: Intensidad de emisión.....	47

ÍNDICE DE ANEXOS

Pág.

Anexo 1: Características de los animales experimentales.....	62
Anexo 2: Características de las cápsulas de permeación seleccionadas.....	62
Anexo 3. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 17.....	63
Anexo 4. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 15.....	63
Anexo 5. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 13.....	64
Anexo 6. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 7.....	64
Anexo 7: Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 8.....	65
Anexo 8: Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 26.....	65
Anexo 9. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 6.....	70
Anexo 10.. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N°10.....	70
Anexo 11. Calculo del porcentaje de digestibilidad de la materia seca y orgánica por animal según la ración consumida periodo 1:	71
Anexo 12.: Calculo del porcentaje de digestibilidad de la materia seca y orgánica por animal según la ración consumida periodo 2:	72
Anexo 13.: Calculo del porcentaje de digestibilidad de la materia seca y orgánica por animal según la ración consumida periodo 3:	73
Anexo 14.: Calculo del porcentaje de digestibilidad de la materia seca y orgánica por animal según la ración consumida periodo 4:	74
Anexo 15: porcentaje de digestibilidad de la materia seca consumida de las dos raciones totalmente mezcladas en los 4 periodos de alimentación.....	75
Anexo 16: Porcentaje de digestibilidad de la materia seca consumida de las dos raciones totalmente mezcladas en los 4 periodos de alimentación.....	75
Anexo17: Promedio de Digestibilidad de materia seca, orgánica y consumo% peso vivo en los cuatro periodos.....	75
Anexo 18: Análisis estadístico (ANOVA)	76

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar la relación entre el nivel de energía en el alimento sobre la producción de metano entérico (CH_4) en ovinos bajo un sistema intensivo tradicional de costa, usando la técnica del trazador hexafluoruro de azufre (SF_6). Ocho ovinos machos castrados de la raza Junín con una edad promedio de 1,2 a 1,3 años y un peso promedio de $36,6 \pm 4$ kg, se sometieron a dos tratamientos en un diseño de cambio simple, cada animal recibe sucesivamente todos los tratamientos en cuatro etapas sucesivas con un arreglo factorial de 2×4 con 4 repeticiones. Los tratamientos fueron dos raciones, una con bajo nivel energético de 30% carbohidratos no estructurales (T1) y otra de alto nivel energético de 50% de carbohidratos no estructurales (T2), el consumo, la digestibilidad y la producción total de metano entérico se midieron individualmente por medio del trazador SF_6 ('trazador CH_4 ') por periodos de 24 h. ,las emisiones de CH_4 correspondientes se calcularon utilizando la PR pre-calibrada y las concentraciones de CH_4 y SF_6 se determinaron mediante cromatografía de gases.

La producción de metano entérico se expresó $\text{g./CH}_4/\text{día}$ y se concluyó que los niveles de energía en la ración no afectaron las emisiones de CH_4 , pero si se observaron efectos en la intensidad de emisión con respecto a la ganancia de peso/día, donde los ovinos alimentados con la ración de alto nivel energético fue significativamente superior, lo que hace disminuir el impacto negativo de la emisión de metano por una mayor ganancia de peso. De la misma manera fue con respecto a la emisión de CH_4 entérico de ovinos por unidad de consumo, materia seca digestible y el factor de conversión de energía bruta a CH_4 (Y_m) el que se encuentra entre 9.1 y 8.1 %.

Palabras clave: metano entérico, ovinos, trazador SF_6

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the relationship between the level of energy in the feed in the production of enteric methane (CH₄) in sheep under a traditional intensive coastal system, using the technique of the sulfur hexafluoride (SF₆) marker. Eight castrated male sheep of the Junín breed with an average age of 1.2 to 1.3 years and an average weight of 36.6 ± 4 kg, underwent two treatments in a simple change design, each animal successively receiving all treatments in four successive stages with 2 x 4 factorial arrangement with 4 repetitions. The treatments were two rations, one with a low energy level of 30% non-structural carbohydrates (T1) and another with a high energy level of 50% non-structural carbohydrates (T2), consumption, digestibility and total enteric methane production. measured individually by means of the SF₆ plotter ('CH₄ tracer') for periods of 24 h., the corresponding CH₄ emissions were calculated using the precalibrated PR and the concentrations of CH₄ and SF₆ were determined by gas chromatography.

Enteric methane production was expressed in g./CH₄/day and it was concluded that the energy level in the ration did not affect the CH₄ emissions, but effects were observed in the intensity of emission with respect to the increase in weight / day , where rations of sheep fed with high energy level were significantly higher, which decreases the negative impact of methane emission by a greater weight gain. In the same way, it was with respect to the emission of enteric CH₄ of sheep per unit of consumption, digestible dry matter and the crude energy conversion factor to CH₄ (Y_m), which is between 9.1 and 8.1%.

Keywords: enteric methane, sheep, SF₆ tracer

I. INTRODUCCIÓN

Se ha estimado en el Perú que en los últimos cinco años las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI), se ha incrementado en un 19 por ciento por lo cual se trazó como meta implementar estrategias de mitigación y reducción, en el último documento del 2015 “Contribución prevista y determinada a nivel nacional” (iNDC) donde se contempla una reducción del 30 por ciento respecto a las emisiones de GEI proyectadas para el año 2030 iNDC (2015). Teniendo en cuenta que parte importante de GEI provienen de la industria ganadera y esta se viene desarrollando de manera creciente por el aumento de la población humana y por ende la mayor demanda de alimentos, se prevé que para el año 2050 esta población se duplicara y por ende las emisiones de CH₄, se estima que una reducción del 50 por ciento de emisiones sería insuficiente debido al incremento de la población de rumiantes Pinares-Patiño et al. (2003).

Para determinar estrategias de mitigación para lograr los objetivos propuestos es necesario tener los datos reales de cuanta es la emisión de CH₄ por animal. Según el último censo agropecuario del INEI (2012), existen 9, 523,198 ovinos, lo cual representa una población con mayor número de rumiantes en nuestro país y si se considera que los niveles de emisión de CH₄ emitidos por estos son menores que los vacunos, pero por el número de animales estos representan una importante fuente de emisión de CH₄. Entre las mejores estrategias de mitigación, tenemos el mejoramiento de la calidad de la dieta ya que es un factor determinante en la cantidad de CH₄ entérico producido ya que es el sustrato donde actuarán los microorganismos productores de CH₄.

En varios estudios con ovejas (Murray et al. 1976, Johnson. 1995, Immig *et al.* 1996), se considera que, alrededor del 98% de la producción de CH₄ entérico total se elimina a través de la boca y las fosas nasales, en base a esto utilizaremos la técnica del trazador de hexafluoruro de azufre (SF₆) que describe Johnson y Johnson (1995), el presente trabajo tiene como **objetivo** cuantificar la producción de CH₄ entérico en una ración de alto nivel energético con 50% de carbohidratos no estructurales y otra ración de bajo nivel energético con 30% de carbohidratos no estructurales.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Calentamiento global y producción de metano por los rumiantes

Según estudios diversos se ha detectado que el creciente porcentaje de gases de efecto invernadero, tendrá un impacto negativo puesto que aunque el mundo logre limitar el alza de las temperaturas mundiales a 2°C, fue el objetivo que se fijó en los acuerdos de París sobre el clima, las consecuencias serán significativas como la subida del nivel de los mares, pérdida de la biodiversidad, así que se debe tomar medidas para evitarlo, y adaptarse a las múltiples consecuencias del calentamiento global (Mitchell et al. 2017, Foster et al. 2007). Tomando en cuenta la diferencia entre la radiación solar absorbida y la emitida por la Tierra, así como su distancia con respecto al sol, la temperatura terrestre debería ser -18°C. Sin embargo, la temperatura promedio global es +15°C que se genera por un proceso natural conocido como “Efecto invernadero” (Martínez et al. 2004; MINAM 2009) el cual se tiene que ayudar a minimizarlo.

El CH₄ es un contaminante climático de corta duración y tiene una vida media de 12 años, en comparación con el Dióxido de carbono, partes del cual permanecen en la atmósfera por muchos cientos o miles de años, incluso durante un período de 100 años, el efecto de calentamiento comparativo de CH₄ es 28 veces mayor que el dióxido de carbono (por kg) , la proporción de CH₄ aumenta a más del 18% de los GEI globales (con emisiones de 49 Gt CO₂e), por lo tanto, reducir la tasa de emisiones de CH₄ ayudaría a reducir la tasa de calentamiento global en el corto plazo, si se mantienen las reducciones de emisiones (FAO 2015)

Con emisiones estimadas en 7,1 gigatoneladas (GT) de dióxido de carbono equivalente (CO₂-eq) por año, representan el 14,5% de las emisiones de GEI producidas por actividades del ser humano, el sector ganadero incide de manera importante en el cambio climático, alrededor del 70% de las emisiones de CH₄ son atribuidas a la agricultura, hay que tener en cuenta que la fermentación entérica a nivel mundial, los rumiantes producen 2,7 Gt de CO₂ eq. de CH₄ aproximadamente.

Anualmente, esto representa aproximadamente el 5,5% del total mundial de las Emisiones de GEI de origen antropogénico, el ganado representa el 77% de estas emisiones (2.1 Gt), el ganado vacuno con el 14% (0.37 Gt). los pequeños rumiantes (ovejas y cabras) con el resto (0.26 Gt) (FAO 2013). Los pequeños rumiantes entre los cuales están los ovinos (0,4 gigatoneladas de CO₂-eq) tienen niveles de emisión menores que los vacunos y representan entre el 7 y el 10 por ciento de las emisiones totales y asumiendo una emisión ruminal de 9 kg de CH₄ por oveja al año y 1.057 millones de ovejas y 677 millones de cabras en el mundo en 1996 Morand-Fehr et al. (1999), las ovejas y cabras son las responsables de al menos de 200 g/kg de CH₄ por la fermentación entérica .

El sector ganadero Contribuye significativamente al total de emisiones humanas de GEI pues representa aproximadamente el 39.1 por ciento del total de emisiones de origen antropogénico, según el IPCC (2006) y es responsable de cerca del 23 por ciento de las emisiones de CH₄ globales (Khalil 2008), causado en gran parte por los rumiantes de las cuales ligadas a la alimentación animal representan cerca del 47 por ciento del total del sector ganadero (ligeramente por encima de las 3,3 giga toneladas de CO₂-eq), y la fermentación entérica es la segunda fuente en importancia con 2,7 gigatoneladas de CO₂-eq, equivalentes al 40 por ciento del total (IPCC 2006).

2.2.Emisiones de GEI y la importancia de conocer factores de emisión (Ym) para los inventarios de emisiones de metano en el Perú.

El país si bien es uno de los países que emite menos gases con efecto invernadero, estas han ido incrementándose de manera sostenida, aunque en índices reducidos si se compara con las de países desarrollados, en los últimos cinco años las emisiones se han incrementado en un 19 por ciento, pasando de 159 millones de toneladas de carbono equivalente en el 2010, a 189 millones de toneladas que se estima que se alcanzó en el 2015. Pulgar-Vidal (2015). La contribución que hace el Perú con respecto a emisiones de GEI globales es menor al 1 %; sin embargo, el país evidencia un crecimiento económico ligado al aumento de sus emisiones de dióxido de carbono (CO₂) y otros Gases de Efecto Invernadero causantes del cambio climático, que son derivados del incremento poblacional, patrón de producción y consumo, uso energético, entre otros factores, las emisiones de GEI al año 2009 ascendió a 138 millones de toneladas de CO₂ , equivalente (MTCO₂eq.), reflejando un aumento de 15 % en las emisiones con respecto al año 2000 (www.planccperu.org.2013). La tercera categoría que

contribuye al total nacional de emisiones de GEI está representada por la agricultura, con dos fuentes importantes: fermentación entérica y suelos agrícolas por emisión de N₂O MINAM. (2009).

El Perú viene realizando su Tercera Comunicación Nacional a la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre Cambio Climático siguiendo las Directrices del IPCC con intentos de lograr pasar al nivel 2 usando valores de consumo de energía bruta por defecto. Para comparar los gases inventariados como lo establece el IPCC, se ha recurrido a una equivalencia llamada Potencial de Calentamiento Global (PCG), que transforma los gases a unidades equivalentes de CO₂ (CO₂-eq). (CONAM 2001, MINAM 2010, MINAM 2016)

El IPCC viene desarrollando metodologías y directrices orientando a las Partes de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC), en la elaboración de los inventarios nacionales de emisiones de gases de efecto invernadero (GEI), las cuales tienen tres niveles, siendo el nivel 3 el que mejora la precisión del inventario y reducen la incertidumbre, pero aumentan la complejidad y recursos requeridos (FAO 2015), en el Nivel 1 permite el uso de las estadísticas internacionales y de estudios previos, facilitando las estimaciones y preparación de los inventarios nacionales de emisiones de GEI en países en vías de desarrollo (FAO 2015).

En el Nivel 2 se determina el consumo de energía neta para mantenimiento, actividad, crecimiento, gestación y lactación dadas las condiciones de la zona y toma un rendimiento de metano (Y_m) por defecto según el sistema productivo; y en el nivel 3 se usan mediciones de emisiones directas y se incluyen modelos y sistemas de medición de inventarios adaptados a las circunstancias nacionales y repetidos en el tiempo a intervalos regulares, se detalla la población del ganado según el tipo de animal, la edad, el peso corporal, etc., lo que permite estimaciones de mayor certeza que los niveles inferiores (FAO 2015).

Es de mucho interés que se comiencen a obtener datos nacionales sobre emisión de GEIs, ya que hasta el momento Perú elabora sus Inventarios utilizando Factores de Emisión (Tier 1 y 2, reportados por el IPCC) (DINAMA. 2010) lo que podría estar afectando no solo la confiabilidad de los Inventarios sino también la Huella de Carbono de los productos exportados y en un futuro se podría utilizar este valor como una barrera arancelaria, y el país no solo deberá competir a nivel mundial en base a costos de producción, sino que se introducirán nuevos criterios como la competitividad ambiental, donde se deberá incluir

información sobre la huella de carbono por unidad de producto exportado por lo que debemos estar preparados (Dini et al. 2012).

El factor de emisión (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 MJ es el contenido de energía de 1Kg de metano, esta depende de la calidad y la digestibilidad de la dieta, la relación negativa que existe entre el Y_m y la digestibilidad se asume que a medida que aumenta la digestibilidad disminuye el Y_m , los valores de Y_m que se encuentran en la bibliografía varían entre el 2% y 12% de la energía ingerida para diferentes dietas Johnson y Johnson (1995)

2.3. Producción de metano entérico y factores que afectan su emisión

Dentro del rumen se forma un sistema anaerobio donde ocurre la degradación de la fibra por medio de la fermentación donde está involucrada la actividad microbiana (bacterias, protozoos, hongos, y archaeas) Blaxter y Clapperton (1965), dentro de ellos tenemos a los microorganismos formadores de metano entérico denominados metanogénicas y protozoos que reducen el CO_2 a CH_4 a partir del CO_2 y protones (H^+) (Ellis et al., 2007), estos microorganismos permiten mantener la homeostasis acido-base del rumen, permitiendo remover H^+ y mantener la eficiencia energética y el pH en un rango estrecho para asegurar la salud del rumen Dukes et al. (1977) .

El CH_4 entérico como producto de la fermentación microbiana de la materia orgánica de los alimentos ingeridos Buddle et al.(2011) y fermentados en el rumen en donde se produce la metanogénesis que es la formación de CH_4 , pues es la principal vía para la remoción del H_2 generado durante la producción de ATP por los microorganismos anaeróbicos del rumen Martin et al.(2009), por ello cualquier intento de modificar la producción de CH_4 ruminal debe tener en cuenta la forma alternativa de remoción del H_2 , de manera que no se vea perjudicada la eficiencia del sistema digestivo Clark et al. (2011).

La flora microbiana fermenta los azúcares liberados, dando lugar como producto final a la formación de ácidos grasos volátiles, CO_2 , CH_4 y calor, así como al crecimiento y proliferación de los propios microorganismos y el metano producido de esta fermentación resulta inerte tanto para la flora microbiana como para el animal, por lo tanto, es un producto de desecho nutricional (O'Kelly et al.1992; Lana et al. 1998), eliminándose principalmente por exhalación o eructo.

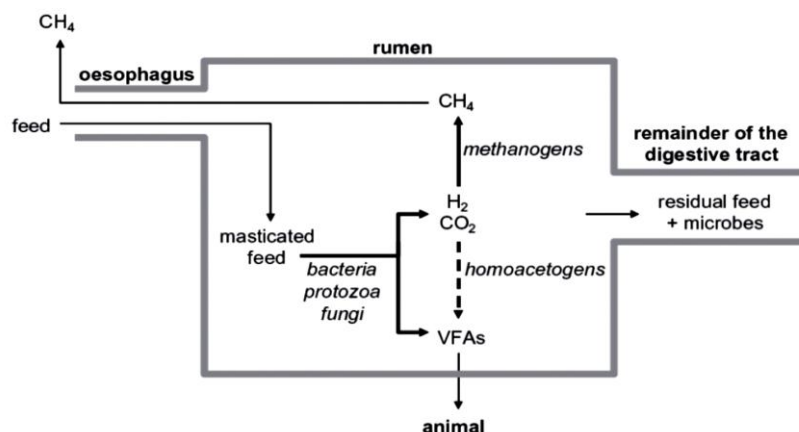


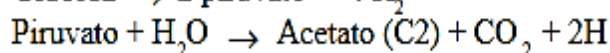
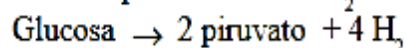
Figura 1. Metanogénesis ruminal

FUENTE: Pinares-Patiño et al. (2003).

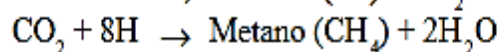
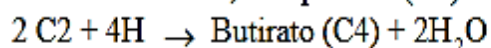
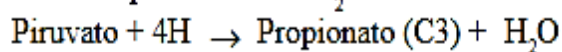
Aunque el CH₄ se puede producir a partir de los AGV y existen sumideros de H₂ en otras rutas metabólicas (acetogénesis), estos procesos parecen ser de poca importancia en el rumen Russell et al. (1997), principales AGV (acetato y butirato) producen diversas cantidades de H₂ siendo el propionato un sumidero de 2H disminuyendo de este modo la cantidad total de 2H disponible para reducir el CO₂ en CH₄, el propionato se puede formar por dos vías diferentes como a través del succinato (la más importante en el rumen) y acrilato, que implican diferentes bacterias. Russell et al. (1997) .En promedio la producción de ácidos grasos en el rumen tiene la siguiente relación entre ácido acético (55mmol/L), ácido propiónico (20 mmol/L) y ácido butírico (10 mmol/L)), y teniendo en cuenta que la producción de acetato favorece el incremento de la concentración de H⁺ en el rumen nace como una de las grandes tendencias en cuanto a estrategias de mitigación es reducir la proporción de ácido acético Knapp et al. (2014).

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

Reacciones productoras de H₂:



Reacciones que utilizan de H₂:



Janssen (2010) estimó que la cantidad de CH₄ formada a partir de la fermentación de la glucosa en el rumen puede variar de 0 (0,67 acetato + 1,33 propionato; ninguna producción neta de H₂) a 1 (2 acetato + 4 H₂) mol CH₄/mol glucosa, y concluyó también que la producción de CH₄ en el rumen depende de la cantidad de H₂ formado y por lo tanto de la actividad relativa de las diversas especies microbianas, que participan en las rutas de fermentación responsables de la producción de H₂,

Glucosa → 2 piruvato + 4H (metabolismo de los carbohidratos)

Piruvato + H₂O → acetato + CO₂ + 2H;

Piruvato + 4H → propionato + H₂O;

2 acetato + 4H → butirato + 2H₂O.

Vargas et al. (2012); Morgavi et al. (2010) consideran que los protozoos no son tan indispensables para el metabolismo ruminal y por ello se puede buscar reducir su población por intermedio de la creación de un ambiente desfavorable para su crecimiento y de esta forma reducir la producción de metano entérico emitido.

La producción de metano está relacionada principalmente con la cantidad del alimento ingerido (Buddle et al. 2011; Jonker et al. 2017; Lassey et al. 2011). Al aumentar el nivel de consumo en consecuencia aumentan las emisiones totales de metano por animal (Pinares-Patiño et al. 2003b), sin embargo, disminuyen por unidad de materia seca consumida (Blaxter y Wainman 1961; Blaxter y Clapperton 1965; Johnson y Johnson 1995), esto debido a que una mayor ingesta acelera la tasa de paso del alimento, porque disminuye el tiempo de fermentación ruminal afectando la degradabilidad de la dieta y reduciendo el tiempo de exposición del material fibroso a los microorganismos metanogénicas (Hindrichsen et al. 2006; McAllister et al. 1996; Pinares-Patiño et al. 2003a).

La reducción de las emisiones esta correlacionada con una mejor calidad y digestibilidad de los nutrientes (Boadi et al. 2002; Boadi y Wittenberg 2002; IPCC 2007), la calidad y digestibilidad del alimento afecta en mayor medida al methane yield (Y_m) (Harper et al. 1999; IPCC 2007), que viene a ser la pérdida energética por producción de CH₄ en relación a la energía bruta (EB) ingerida (Lassey 2007), el cual varía entre un 2 a 12% según el tipo de dieta Johnson y Johnson (1995). En diferentes estudios han demostrado que las dietas

basadas en granos reducen las emisiones de metano por unidad de materia seca consumida, en comparación con las dietas a base de pastos, debido fundamentalmente al aumento en la producción de propionato, que provee una ruta metabólica que consume H_2 y por tanto, reduce el sustrato disponible para la metanogénesis Murphy et al. (1982), a la disminución del pH ruminal con la consecuente inhibición del crecimiento de metanógenos en el rumen Lana et al. (1998)

Moss et al. (2000) encontraron una relación lineal entre la digestibilidad de la materia orgánica y la pérdida de energía por metano (como porcentaje de EB) para un nivel de alimentación de 1,2 x mantenimiento y para un nivel de alimentación de 1,6 x mantenimiento, ellos evidenciaron un aumento de las emisiones de metano (como porcentaje de EB) hasta una digestibilidad del 78 por ciento, y para altas digestibilidades una reducción del porcentaje de pérdidas como metano, Hegarty et al.(2010), propusieron las siguientes relaciones entre el consumo de alimento, la digestibilidad (55 a 85 por ciento) y la producción de CH_4 para corderos en crecimiento en pastoreo: un aumento en el CMS está asociado a un aumento lineal de la GDM, con la tasa de GDM más alta en alimentos de mayor digestibilidad; el aumento del CMS está asociado con un aumento en la producción de CH_4 .

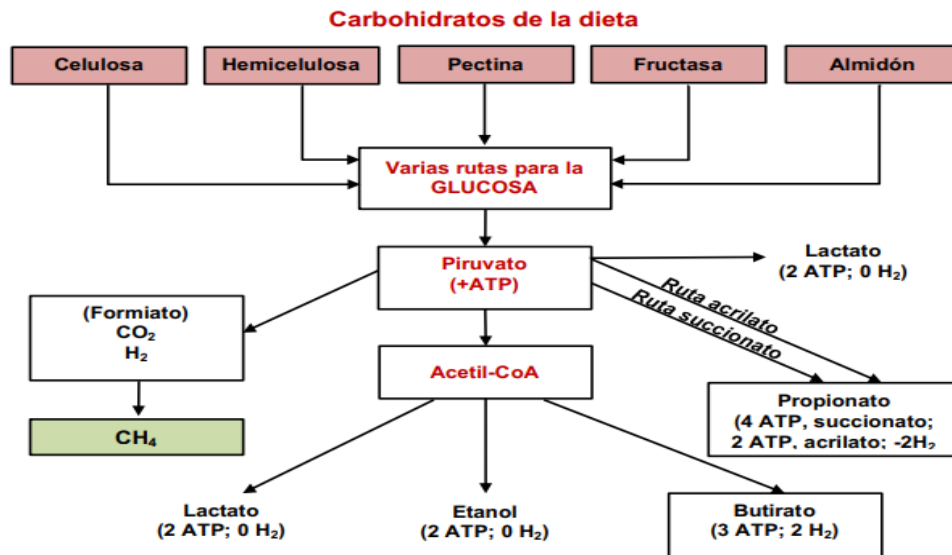


Figura 2: Metabolismo de carbohidratos en el rumen

Fuente: simplificado de Van Soest (1994) y Rusell y Wallace(1997)

Entre los principales factores que afectan la emisión de CH₄, está el consumo de materia seca Pinares-Patiño (2007); Richmond et al. (2015), cuando se incrementa el CMS disminuye la emisión de metano por unidad de consumo, empleando la técnica del trazador SF₆ en ovinos se encontró una correlación de 37% con el CMS y que tan solo aporta en 14% a la variación de CH₄ que los factores intrínsecos fueron los más importantes Lassey et al. (1997).

Se reportó una alta correlación (74%) entre la emisión de CH₄ (gCH₄/día) y el consumo de FDNd Pinares- Patiño y Clark (2010), la reducción de la emisión CH₄ por unidad de consumo se nota más claro en dietas con alta digestibilidad aparente que en dietas de baja digestibilidad (Blaxter y Clapperton 1965), al incrementarse el consumo, la tasa de pasaje se incrementa y se reduce el tiempo de exposición del material fibroso a los microorganismos metanogénicas (Blaxter y Clapperton 1965).

La edad si bien es cierto no es considerado uno de los factores que varían la producción de metano por unidad de consumo (g CH₄/ Kg CMS) se reportó una diferencia de 8% donde fue mayor en ovinos adultos que en jóvenes Knight et al. (2008), pero en un estudio en vacunos del mismo factor , considerando incluso amplias diferencias de edad (< 1 año y > 6 años de edad) se encontró 24.5 ± 0.42 y 23.8 ± 0.43 g CH₄/ Kg CMS respectivamente lo que sugiere que no afecta significativamente en la emisión de metano por unidad de consumo Ramírez-Restrepo et al. (2015)

2.4. Pérdida energética y económica

El CH₄ de la fermentación entérica de los rumiantes no es solo un importante gas de efecto invernadero asociado a problemas medioambientales, ya que también representa una pérdida de la energía del alimento 20-150 kJ/MJ de la ingesta (Johnson y Johnson 1995; Moss et al. 2000). Se encontró una relación lineal directa entre la digestibilidad de la materia orgánica y la pérdida de energía por metano (como % de EB) para un nivel de alimentación de 1,2 x mantenimiento.

la pérdida económica se genera pues la producción de metano entérico es aproximadamente entre 2-12 por ciento de la energía bruta del alimento consumido como CH₄ y teniendo en consideración que esta pérdida se podría traducir en producción. Se ha postulado que en una

vaca (alta producción) una reducción del 20% de metano representa la energía necesaria para sintetizar 0.6 kg de leche por día. Beauchemin y McGinn (2006)

2.5.Estrategias de mitigación

La importancia de la manipulación de la emisión de CH₄ dependerá del sistema de producción ganadero en donde se encuentren los animales, por ejemplo, los sistemas intensivos de producción tipo 'feedlot' se caracterizan por tener emisiones reducidas y el potencial de reducción de estas emisiones son relativamente menores dado que las manipulaciones animales y dietéticas ya se han implementado con la intensificación de producción Capper et al. (2009). Las prácticas rápidamente disponibles para mitigar la emisión de CH₄ entérico tenemos a la manipulación de la dieta y el manejo.

En la alimentación ofrecida a los animales se busca una optimización del proceso de fermentación ruminal y consecuentemente la reducción de la producción de metano por cada animal Blas et al. (2008). Los cambios en la composición de la dieta implican la alteración de la flora microbiana que llevarían a una disminución de la digestión de la fibra, favoreciendo la formación de ácido propiónico y una menor producción de metano (Van Soest et al.1994; Johnson et al.1995).

Para una reducción de metano la suplementación con concentrados debe constituir >40% de la dieta diaria Vermorel (1995; Boadi et al. (2002), lo que ocasionara cambios en la composición de la flora microbiana , esto ocurre por la mayor velocidad de fermentación del concentrado Johnson y Johnson (1995) .La disminución del poder tampón asociado al consumo de forraje de forma directa (capacidad buffer de las pectinas o la lignina) o indirecta (a través de la inducción de la rumia y de la entrada en el rumen de tampón fosfato y bicarbonato contenido en la saliva). Moss et al. (2000)

Alta proporción de carbohidratos no fibrosos da lugar a un entorno desfavorables para las bacterias metanogénicas incrementándose la tasa de pasaje, disminución del pH ruminal y de la población de determinados protozoos, y las bacterias metanogénicas pueden ser eliminados o inhibidos Van Soest (1994). Se cree que una inclusión más alta de carbohidratos no fibrosos en la dieta de los rumiantes disminuye la producción de CH₄ entérico. Beauchemin et al. (2008), si se reduce la digestión de la fibra y se tiende hacia un tipo de fermentación acética en detrimento de la propiónico.

Un aumento de la proporción de concentrado en la ración supone un descenso considerable en la concentración de hidrógeno, bacterias metanogénicas, cambios en la acidez ruminal, tipo de fermentación y cantidad de metano producido McGinn et al. (2006), Van Soest (1994); Lana et al. (1998). La mejora en la calidad de dieta podría resultar en mayor consumo de alimento y disminución en la cantidad de metano por kg de leche o carne producido.

Existen estrategias diversas como la adición de aditivos como los taninos, cuyo efecto reductor ha sido informado en ovejas Waghorn et al. (2002). Se ha encontrado recientes logros en la secuenciación del genoma de algunos metanogénicas ayudas al desarrollo de vacunas e inhibidores de la metanogénesis Attwood y Mcsweeney (2008).

La suplementación de dietas con lípidos que no están protegidos de la digestión ruminal reduce las emisiones de CH₄ entérico, se ha encontrado que estas serían $\geq 40\%$ con altos niveles de lípidos suplementación machmuller y kreuzer (1999); jordan et al. (2006a). Se recomienda que la grasa total no debe exceder el 6–7% de la MS dietética, de lo contrario puede ocurrir una depresión en DMS, la efectividad de añadir lípidos a la dieta para reducir las emisiones de CH₄ dependen de muchos factores, incluido el nivel de suplementación, fuente de grasa, perfil de ácidos grasos, forma en la cual la grasa se administra.

En diferentes estudios se ha encontrado que CH₄ (g / kg DMS) se reducían un 5,6% con cada adición de 1% de grasa suplementaria (63.8% reducción con un 7% de aceite añadido, Machmüuller y kreuzer (1999) o ácido mirístico (58.3% de reducción con 5% de grasa agregada; machmüuller et al. (2003b) aceites refinados que son ricos en ácidos grasos de cadena media. Es poco probable que los aceites refinados que contienen mcfa sean utilizado comercialmente por los productores de ganado como una mitigación de CH₄, por su costo.

La principal meta es la adaptación es reducir la vulnerabilidad promoviendo el desarrollo sostenible debe enfocarse a corto y a largo plazos, e incluir componentes de manejo ambiental, de planeación y de manejo de desastres. La adaptación al cambio climático debe considerar no solamente cómo reducir la vulnerabilidad frente a los impactos negativos, sino también cómo beneficiarse de los positivos de esto ha surgido el concepto de agricultura climáticamente inteligente (CSA, por sus siglas en inglés), logrando seguridad alimentaria y metas de desarrollo más generales ante un clima en constante cambio y la creciente demanda de alimentos.

La agricultura climáticamente inteligente tiene iniciativas las cuales ayudan a incrementar la productividad, mejorando la resiliencia y reduciendo o eliminando gases de efecto invernadero (GEI) de manera sostenible, para lo cual se requieren de planificación para abordar las concesiones y sinergias entre: productividad, adaptación y mitigación. FAO(2010), se estima el potencial de mitigación es de un 30%, unas 1,8 gigatoneladas de CO₂-eq, respecto al escenario basal IPPC(2006). El cálculo se basa en asumir que los productores de un sistema, región y zona agroecológica aplican las prácticas del 10% de los productores con la menor intensidad de emisiones de metano, manteniendo constante la producción, lo que provocara una reducción sostenible.

2.6.Métodos para medir y estimar la emisión de metano (CH₄) en los rumiantes

Entre los modelos desarrollados para estimar las emisiones de metano en el ganado está el estándar del IPCC (Panel Intergubernamental del Clima) que se pueden usar para cuantificar la producción de metano a nivel mundial, nacional o local en la granja, que opera con tres niveles diferentes dependiendo de la base de datos establecida en el país en cuestión. Se conocen como niveles 1, 2 y 3 IPCC(2006), los tres métodos se basan en la proporción de la ingesta de energía bruta (GE) del rumiante.

El nivel 1 utiliza un factor de emisión de 6.5% (Y_m) y una GE asumida, nivel 2, y especialmente el nivel 3, se derivan de experimentaciones directas, se requiere más información para determinar Y_m. El nivel 3 está en relación con la digestibilidad y contenido de nutrientes de la alimentación, incluso fuentes de hidrógeno (producción de acetato y butirato, crecimiento microbiano como fuente de nitrógeno), fuentes de propionato y ácidos grasos volátiles IPCC (2006), según la Metodología del IPCC.

El factor de emisión (FE) en ganadería para la fermentación entérica, viene a ser los kilogramos de metano emitidos por animal durante un año, las directrices del IPCC para el nivel 1, proporcionan un conjunto de factores de emisión por defecto, obtenidos de una revisión exhaustiva de la literatura. Para estimar la emisión de metano se multiplica el FE por el número de cabezas de ganado de un país y llevarlo a CO₂-eq FAO (2015).

Los métodos para cuantificar la emisión de metano entérico individuales son diversos todas estas son diferentes en cuanto a su aplicación, exactitud y precisión, pero todos coinciden en la medición de la concentración de CH₄ en el ambiente Hammond et al.(2016).

Principalmente para determinar la pérdida energética y la estimación de la producción de calor basada en el intercambio respiratorio Reynolds (2014), entre los cuales tenemos a los diferentes sistemas de cámaras de respiración que calculan a partir de la concentración de flujo y gas en el aire de entrada y salida desde la cámara, la diferencia entre la cantidad de metano saliente y entrante corresponde a emisión metano.

Con el objetivo de estudiar el metabolismo energético de los animales Johnson et al. (2003) y medir la concentración de CH₄ y CO₂, por sus sistemas de aire acondicionado controlando la humedad y temperatura interna. La variación de la presión interna de la cámara afecta a la medición del CH₄ hasta en ± 1 mmHg Blaxter y Clapperton (1965)

La técnica de producción de gas in vitro (IVGPT) se ha utilizado para simular la fermentación ruminal de piensos ,el principio básico es fermentar la alimentación en condiciones de laboratorio controladas .Para esta técnica se emplea microbios naturales del rumen se incuban a 39 ° C con una mezcla de fluido del rumen, tampón y minerales durante un cierto período de tiempo, generalmente 24, 48, 72, 96 o 144 h y Se mide la cantidad de gas total producido durante la incubación y su composición .

El CO₂ como gas indicador de la proporción de CH₄/CO₂ se obtiene calculado diariamente la producción total de CO₂ del animal, los cálculos son los mismos que para la técnica del trazador SF₆, Madsen, J (2010). El consumo de alimento medido puede ser convertido a producción de calor, y existe una estrecha relación entre el calor y la producción de CO₂, los animales en mantenimiento están emitiendo 1 L CO₂ por 21.5-22.0 KJ de calor producido, la principal desventaja es que la actividad y la producción del animal influyen en la cantidad de CO₂ producido Pedersen et al. (2008)

2.7.Medición de metano entérico usando la Técnica trazador SF₆

La técnica usando el hexafluoruro de azufre (SF₆) como gas indicador, basada en que aproximadamente el 95% del CH₄ ruminal (87% de la producción total) es eructado y que el 89% del CH₄ generado en intestino grueso (11% del total) se elimina a través de los pulmones. Aproximadamente el 99% de la producción total de CH₄ es exhalado por boca y nariz (83% por eructación y 16% por exhalación) Murray et al. (1976).

La técnica del trazador de hexafluoruro de azufre (SF_6) fue desarrollada por Zimmerman (1993) y el primero en adoptarlo fue Johnson et al. (1994), siendo la última modificación para ganado fue descrita en detalle por Deighton et al. (2014). Esta última adaptación considero como partes el dispositivo de liberación lenta (tubo de permeación) y para el muestreador lineal con un limitador de flujo y recipiente de recolección de gas este suspendido aparato de sujeción en forma de V de tubería de cloruro de polivinilo (PVC) O'Neill et al. (2011); Deighton et al. (2014).

El uso del gas trazador SF_6 , disminuye la importancia de la difusión molecular de los gases en la atmósfera Johnson y Johnson (1995), así solo una fracción, pero representativa de gas es tomada alrededor del hocico y ollares de cada animal Lassey et al. (2011). El trazador se acumula en el rumen, y posteriormente es liberado junto con el CH_4 , donde las tasas de dilución para el SF_6 y el CH_4 son idénticas, por lo tanto, se asume que la emisión de SF_6 simula exactamente la emisión de CH_4 Johnson y Johnson (1995).

Conociendo la tasa de liberación del SF_6 en el lapso de recolección de la muestra (usualmente 24 horas), multiplicado por la razón de las concentraciones de CH_4 (ppm) y SF_6 (ppt) que se encuentran en la muestra colectada. La determinación se da por cromatografía de gases y se obtiene la emisión de CH_4 para el lapso de colección en cada animal Berndt et al. (2014); Ulyatt et al. (1999).

Esta técnica se puede utilizar con animales pastando libremente permitiendo manejar al animal en condiciones de pastoreo normal Westberg et al. (2001), por otra parte, el costo del equipo bajo prueba por animal es mucho menor que para los experimentos con la cámara, lo que permite replicar en mayor número de animales. McNaughton et al. (2005) y Johnson y Johnson. (1995) informaron de similitudes entre la técnica del trazador SF_6 y las mediciones de CH_4 de la cámara de calorimetría, y más recientemente Boadi et al. (2002). Sin embargo, estudios realizados en ovejas por Pinares-Patiño (2000) y Wright et al. (2004) no demostraron un acuerdo entre el trazador SF_6 y la cámara calorimétrica en sus estimaciones de emisión CH_4 .

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar y duración

El presente estudio se realizó en la unidad metabólica de ovinos, perteneciente a la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina, ubicada en la provincia de Lima, departamento de Lima; Distrito de la Molina en la latitud Sur 12°04'36", longitud Oeste 76°56'43", Altura 241 (m.s.n.m.), una temperatura promedio que va desde 14.6 °C a 28.7 °C, una precipitación de 60 mm, en la zona Agroecológica Costa sub. – Tropical.

El estudio se llevó a cabo en cuatro periodos con una duración promedio de 31 días (21 días de adaptación a condiciones experimentales y a la dieta ,más 10 días de muestreo de los cuales se colectó 5 días de gas (metano entérico) por 24 horas que se realizó Inter diario, el consumo de materia seca se realizó en simultáneo para expresar las emisiones por unidad de consumo y ganancia de peso vivo en kilogramos , el resto de días se midió la digestibilidad in vivo , también se registró diariamente las condiciones climáticas (temperatura y humedad relativa), el muestreo se realizó desde el mes de febrero hasta el mes de junio del 2017.

3.2. Animales experimentales

Se usaron 8 ovinos cuyas edades oscilaron entre el 1.2 años (capones de la raza Junín con un peso promedio de 36,6 kg. \pm 4), procedentes de la SAIS Tupac Amaru Distrito de Canchayllo, Provincia de Jauja, Departamento de Junín, a la altura del Km. 43 de la carretera central La Oroya-Huancayo ubicadas sobre 3,600 m.s.n.m .se dispuso de un replazo por cada tratamiento, como medida preventiva, ante cualquier imprevisto.

Los ovinos antes de ingresar al experimento, recibieron una alimentación a base de pastos naturales, donde estuvieron sometidos a una temperatura promedio entre 5 a 11.4 °C , al cambiarlos de habitad se tuvo mucho cuidado su estado fisiopatológico puesto que el nuevo ambiente donde fueron instalados alcanzaba temperaturas de 29°C promedio y una

sensación térmica de 34°C ,producto de esto tuvieron problemas de estrés calórico, hasta su adaptación tanto al ambiente y al tipo de alimentación ya que pasaron a consumir una ración totalmente mezclada, la etapa de adaptación tuvo una duración de 30 días.

Dentro de los días de adaptación se realizaron las siguientes actividades:

Se realizo el pesaje individual, a la vez se desparasitó con un antiparasitario de amplio espectro con cobalto (Albendazol 150 mg, sulfato de cobalto heptahidrato 9,75 mg) en Suspensión Oral con una dosis de 1 ml/15 kg de p.v. (para prevenir problemas de parásitos gastrointestinales y hepáticos, que pueda influir negativamente en la prueba) y la aplicación de Tintura Canoderma que es un Antimicótico y germicida cicatrizante por la presencia de afecciones cutáneas en la oreja.

Los animales fueron alojados al azar en corrales individuales y fueron identificados con aretes plásticos indicando su numeración.

3.3. Instalaciones y equipos.

Se usaron 8 corrales individuales de 1,80m de largo por 1,40m de alto, divididas por marcos de madera y malla galvanizada, las mismas estuvieron dotadas de comederos de madera individuales de fácil extracción (0.40 x 0.25 x 0.20 m) y con bebedero de plástico con capacidad de 8 litros para suministrar agua potable, fresca ad libitum durante todos los periodos experimentales.

Para los controles de peso de los animales se dispuso de una balanza de plataforma de 300kg de capacidad y una soga para sujetar al animal. Para el pesado de los alimentos (ofrecido y residual) y heces se contó con una balanza de platillo de 10kg de capacidad, bolsas plásticas y plumón de tinta indeleble.

La colección de heces se efectuó mediante el uso de bolsas colectoras de heces (fabricadas de nylon) con sus respectivos accesorios: sujetador de cuello y dorsales. Durante todo este tiempo se le suministró una dieta basal, además de los equipos de colección de heces, así mismo, se tomaron al azar, el orden de los tratamientos y de los animales de experimentación, para cada periodo.

En el laboratorio de pastos de la Universidad Nacional Agraria la Molina se almaceno las muestras colectadas y se llevó acabo la preparación de los equipos de colección de gas.

3.4. Alimento experimental

El tipo de alimento suministrado fue de dos tipos: para la etapa pre-experimental y para la etapa experimental.



Figura 3: ovinos ubicados en jaulas individuales

3.4.1. Ración de la etapa pre-experimental

El alimento suministrado en la etapa pre-experimental consistió en una ración de mantenimiento, elaborada con el 50:50 de las dos raciones a evaluar y la cantidad suministrada a cada animal durante esta etapa fue de 2kg. En la Tabla 1 se muestran los insumos y la proporción que participaron en la ración de mantenimiento.

3.4.2. Raciones de la etapa experimental

Durante la etapa experimental se proporcionó dos raciones (dos tratamientos) una con alto nivel energético con el 50% de carbohidratos no estructurales y otra con bajo nivel energético con 30 % de carbohidratos no estructurales, de las cuales se tomaron muestras para analizar su contenido nutricional (Tabla1)

3.5. Distribución de los tratamientos

Se estudiaron dos tratamientos con dos niveles diferentes de energía:

- T1: Ración con alto nivel energético con 50 % Carbohidratos no estructurales.
- T2: Ración con bajo nivel energético con 30 % Carbohidratos no estructurales.

Cuadro 1: Raciones experimentales (porcentaje)

INGREDIENTES	T1 – 50% CNE	T2- 30% CNE
Pancamel (80/20)	38.4	77.5
Maíz	42.7	
Torta de soya	15.7	18.4
Sal	0.5	0.5
Suplemento Vitaminas Minerales	0.3	0.3
Subproducto de trigo	2.3	3.2
Total, kg	100.00	100.00

Cuadro 2: Contenido nutricional de las raciones experimentales (Base seca)

CONTENIDO NUTRICIONAL PORCENTUAL (BASE SECA)	TRATAMIENTO	
	T1	T2
NDT	74.2	60.4
Proteína cruda	15	15
Fibra cruda	12.5	22.7
FDN	26.6	45.1
Grasa	2.5	1.2
CNE	50	30
Energía Digestible (ED) Mcal/kgMS)	3.27	2.66

Cuadro 3: Análisis proximal de las raciones con alto nivel de energía (T1) con 50% de carbohidratos no estructurales y ración con bajo nivel de energía (T2) con 30% de carbohidratos no estructurales.

Análisis proximal		
	T1	T2
Materia seca (%)	95,25	95,46
Proteína cruda (%)	13,91	11,74
Extracto etéreo (%)	1,52	0,88
Fibra cruda (%)	10,02	19,47
Ceniza (%)	6,75	6,78
Extracto libre de nitrógeno (%)	63,05	56,59

3.5.1. Mediciones en el alimento

La cantidad y calidad de la dieta fueron medidas con la finalidad de comprender y discutir los valores obtenidos de emisiones de CH₄ entérico.

3.5.2. Etapa pre-experimental.

Los animales fueron sometidos a una etapa pre experimental antes del inicio del estudio, por tres semanas. Durante ese tiempo se le suministró una ración de mantenimiento, además se les colocó el equipo de colección de heces y gas, se tomaron al azar el orden de los tratamientos y de los animales, para cada periodo experimental.

La fase de adaptación consistió en darle tiempo al animal para que su población microbiana se adapte a la nueva dieta

3.5.3. Etapa experimental

El presente estudio consistió en cuatro periodos divididos en dos fases: adaptación, consumo voluntario. Entre cada periodo hubo un descanso de siete días, previo a la fase de adaptación siguiente con la finalidad de evitar efectos del tratamiento anterior. Durante el descanso se proporcionó la dieta de mantenimiento (Cuadro 1) y se sacó el equipo de colección.

a. Evaluación del consumo de alimento

La prueba de consumo voluntario de alimento tuvo 21 días de duración por cada periodo permitiendo tomar datos con mayor exactitud, inicialmente el alimento fue ofrecido en función al peso vivo del animal (pesando a los animales para estimar el suministro inicial de alimento 3% en ovinos), al siguiente día se le proporcionó el 10% adicional de lo que consumían el día anterior y así, sucesivamente, durante la medición del consumo y en un horario constante.

El recojo de los residuos se realizó a las 24 horas del suministro, es decir, a las 11am del día siguiente, siendo dicho residuo pesado en una balanza, para determinar el contenido de materia seca y estimar el consumo neto de alimento por cada animal y por día, además sirve para calcular el consumo neto del concentrado por unidad de peso metabólico (gMS/W 0.75).

- **Alimento Consumido:**

$$C = \text{Alimento ingerido (Kg.)} - \text{alimento residual (Kg.)}$$

b. Digestibilidad del alimento

Para determinar la digestibilidad se realizó recolección de muestras de alimento ofrecido y rechazado, así como las heces con el siguiente esquema: El muestreo de heces se hizo en los cuatro periodos, tiempo en el cual los animales ya estaban perfectamente adaptados al alimento, al lugar y al manejo. Diariamente se cuantificó la cantidad ofrecida y rechazada de alimento por cada corral, así mismo se guardó una muestra representativa para posteriores análisis de laboratorio.

La toma de muestras de heces se realizó durante 5 días de cada periodo, se utilizó el método de colección total directa, evitando que se contaminaran con tierra o cualquier otro material que afectaría los resultados de los análisis, en un periodo de 24 horas, cada 12 horas, obteniendo así 2 muestras por día por animal, las cuales se mezclaron para formar una sola muestra de la cual se tomó el 10% del peso total del días para la determinación de materia seca, las cuales se conservó en congelación y al final de los 5 días para realizar posteriores análisis., luego se realizó la mezcla de las 5 muestras en una sola muestra para luego ser secada en una estufa a 60 °C durante 48 horas, molidas, pasadas por un tamiz de 1 mm.

$$CD = (\text{Alimento ingerido} - \text{heces}) \times 100 / \text{alimento ingerido.}$$



Figura 4: Bolsas de colección de heces colocadas en el animal por 24 horas

3.5.4. Evaluación de los animales

Al inicio y final de cada una de las fases que conformaban un periodo, los animales fueron sometidos al control de su peso vivo, en una balanza de plataforma digital con capacidad para pesar hasta 300 kg. Esto facilitó el cálculo del suministro inicial de alimento el nivel de alimentación durante la prueba de digestibilidad y la determinación del peso metabólico.

a. Cálculo de la materia seca

$$MS (\%) = (\text{peso seco (PS) g} / \text{peso fresco (PF) g}) \times 100$$

b. Materia seca digestible

$$(\text{MSD}) = MS (\%) \times \text{digestibilidad de la materia seca} / 100$$

c. Consumo de Materia Seca (CMS)

$$\text{CMS} = \text{CMO} + \text{Cz}$$

d. Determinación de los coeficientes de digestibilidad

Con ayuda de los resultados obtenidos en el ensayo, se determinó la digestibilidad de la materia seca, materia orgánica.

$$CD = \frac{C - E}{C} \times 100$$

Donde:

CD: Coeficiente de digestibilidad del nutriente en estudio

C : Consumo del nutriente en estudio

E : Excreta del nutriente en estudio

e. Digestibilidad de la materia seca:

$$DMS (\%) = 100 \times (MS \text{ alimento} - MS \text{ heces}) / MS \text{ alimento}$$

Los cálculos de digestibilidad se realizaron en base a 100% de materia seca.

f. Materia orgánica digestible

$$(MOD) = MO (\%) \times \text{digestibilidad de la materia orgánica} / 100$$

g. Digestibilidad de la materia orgánica:

$$DMO (\%) = 100 \times (MO \text{ alimento} - MO \text{ heces}) / MO \text{ alimento}$$

h. Carbohidratos no estructurales (NFC)

$$NFC = 100\% - (PC\% + (FDN\% - NDICP\%) + Grasa\% + Cenizas\%)$$

PC: Proteína cruda

FDN: Fibra Detergente Neutro

NDICP: Proteína Cruda Insoluble en Detergente Neutro

i. Energía bruta

$$EB = 5,65 * PC + 9,40 * GRASA + 4,15 * CARBOHIDRATOS (FIBRA + CNE)$$

j. Energía digestible

se estimó a partir de la materia orgánica, directamente como coeficiente de digestibilidad y para ello se utilizó la ecuación descrita por Rittenhouse *et al.* (1971):

$$DED\% = 1.07 DMO (\%) - 8.13$$

Donde:

DED: Digestibilidad de la energía

DMO: Digestibilidad de la materia orgánica

3.5.5. Análisis de laboratorio

3.5.5.1. Composición Química del alimento

La composición química del alimento ofrecido se determinó en el Laboratorio Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA) de la Universidad Nacional Agraria la Molina.

Las muestras de alimento fueron colectadas al inicio y al final de la semana de medición de cada período y mezcladas, para obtener una muestra representativa se tomó una submuestra para su análisis químico.

Estas fueron secadas en estufa a 60 °C por 48 horas, y luego proceder a la determinación de materia seca (MS), proteína cruda (PC), FDN, ceniza, energía bruta, y digestibilidad in vitro de la materia orgánica (DIMO). Así mismo dos muestras de concentrado fueron tomadas diariamente y mezcladas, tomando una submuestra para determinar la materia seca (MS), proteína cruda (PC), FDN, ceniza, energía bruta.

- Para estas determinaciones se utilizaron las normas establecidas por A.O.A.C. (1980):
- La materia seca se determinó utilizando una estufa a 100°C de temperatura por 24 horas.
- La materia orgánica se calculó por diferencia, hallando el contenido de cenizas (usando la mufla a 600°C de temperatura y por 24 horas)

3.6. Procedimiento para cuantificar las emisiones de metano entérico

Para la aplicación de la presente técnica, se realizó una capacitación en el CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza), Provincia de Cartago, Turrialba, Costa Rica, bajo la dirección de M Sc. Diego E. Tobar López, director de investigación en Biodiversidad GRUPO GAMA, PhD. Sergio Abarca Monge, PhD. Roberto Soto Blanco. Las técnicas aprendidas fueron adaptadas a las condiciones del estudio según se detalla a continuación Haro et al. (2018).

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

A los 15 días se realizó un previo entrenamiento y prueba de una simulación de equipo de colección que simulaban el peso del mismo para que los animales estén acostumbrados para al momento de la medición y evaluación a su vez se puso a prueba su resistencia de los equipos para corregir futuros errores en la colección.

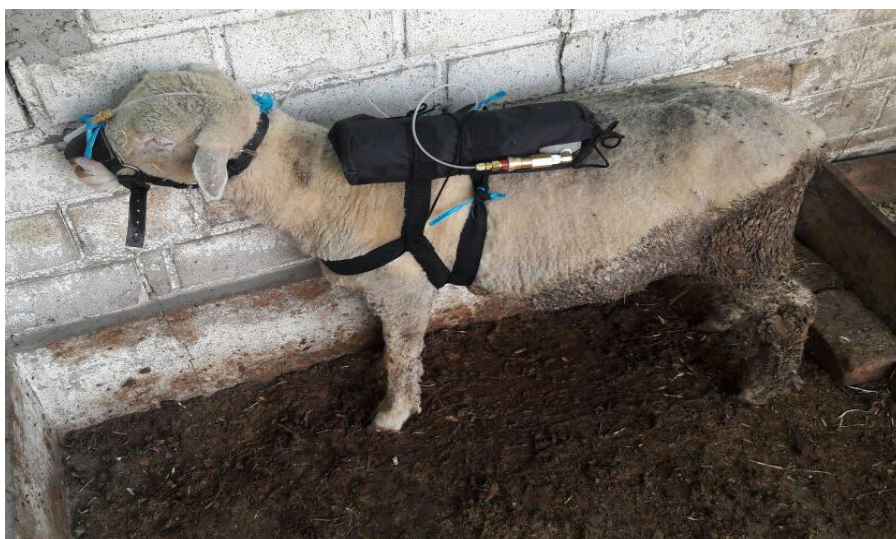


Figura 5: Entrenamiento de los animales con el equipo de colección



Figura 6: A la derecha estufa de aire forzado a 39 °C y a la izquierda el peso de las capsulas de permeación

A los 20 días se dosificó vía oral las capsulas de permeación para insertarse en el rumen y esto supone que el SF₆ es liberado continuamente a una tasa igual a la pre calibrada, este gas se acumula en el espacio libre sobre el líquido ruminal junto con los gases de fermentación (esencialmente CH₄ y CO₂), esto se realiza para asegurarse de que se establezca membrana

una dentro del rumen Gere (2012) y no haya variaciones que ya antes han sido reportadas puesto que el SF6 emitido quede atrapado temporalmente en burbujas que se adhieren a las paredes del rumen hasta que su ruptura da a lugar una liberación repentina del trazador Lasseby et al. (2011).

3.6.1.1. Tubos de Permeación y su pre-calibración

Los tubos de permeación de SF6 fueron construidos a base de una barra de bronce que posee una cavidad en la que está contenido el SF6, la cual se encuentra cerrada mediante un teflón sostenida por una microgrilla de acero inoxidable (Johnson et al. 2003). Tienen un tamaño estándar, estas mismas fueron elaboradas en la Universidad de Saskatchewan (Department of Animal and Poultry Science, Canadá) por el Ph.D. Alan Iwaasa, investigador principal del Swift- Current Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada.

La pre calibración de las capsulas de permeación se realizó en una estufa de aire forzado a 39C° pesándose en una balanza electrónica semanalmente a la misma hora durante 90 días previos a la dosificación, según Berndt et al. (2014) considerándose la pérdida de peso del tubo de permeación debido a la liberación de SF6 con la cual se elaboró una ecuación de regresión con un R² de 99.9% 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 (Figura 7)

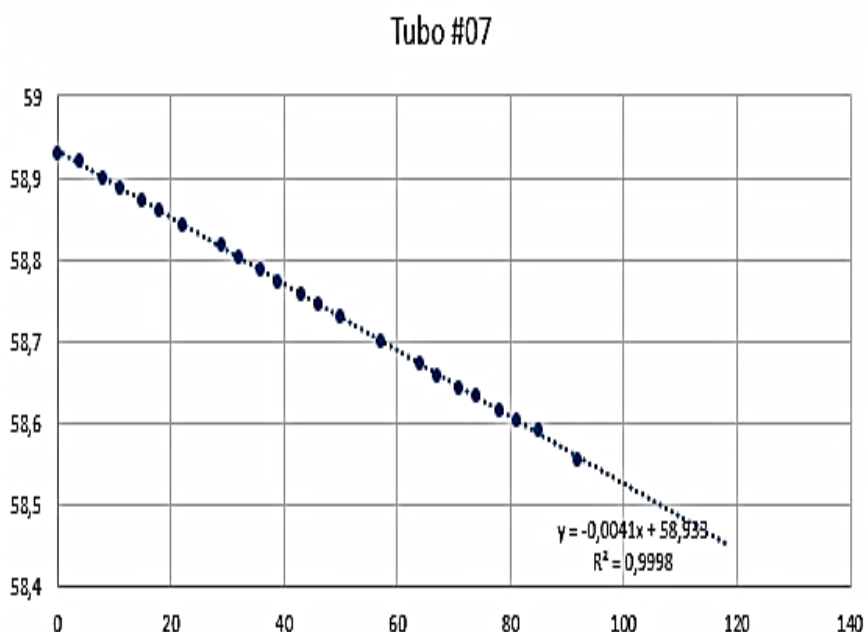


Figura 7: Tasa de permeación (4.3 mg/día) del tubo #7 calibrada durante 90 días.

3.6.1.2. Construcción de Línea de flujo

Las líneas de flujo se usaron como herramienta encargadas de captar y trasladar las muestras de gases emitidos por el animal al Cánister por lo cual tiene que asegurar la colección de una tasa constante durante las 24 horas que tiene como duración, estas se encuentran sujetas a las jáquimas, para su construcción se usaron elementos de conexión rápida Swagelok® los cuales Swagelok®); F: Manguera de Nylon de 1/8"; G : Tubo capilar de 0.0625x0.005mm de diámetro nos permitieron la elaboración de línea de flujo (Componentes de línea de colección de muestra de gas: A: Cánister ; B: codo (B-2-ME, Swagelok®); C: Conector hembra (B-QC4-B-2PF, Swagelok®); D: Conector macho (B-QC4-S-200, Swagelok®); E: Férula (B-200-SET, interno; H: Filtro(B-2F-15, Swagelok®) y I: Manguera de silicona de 1/4") que nos permitió la colección de gas por medio de la generación de vacío y tomar de muestra.

La línea de flujo presenta un pequeño capilar de acero de 0.005" de diámetro interno. Este es el que permite mantener un flujo constante de muestreo, donde la restricción está dada por la constricción del mismo. El capilar fue apretando en una zona específica hasta lograr un flujo de 0.95 a 0.98 CCM con nitrógeno ultra puro a una presión de + 800 mbar, que permitió obtener alrededor de - 400 mbar de presión diferencial en el Cánister al final de un período de 24 horas de muestreo. Dicha calibración de capilar fue realizada con un flujómetro, marca Cole-Parmer, modelo CP-32908-53. Todas las líneas de flujo fueron probadas en laboratorio, donde cualquier línea que se alejó del 40% de llenado, se procedió a descartar (Figura8)



Figura 8: CAP100; Vástago de conexión rápida, unión reductora, tubo capilar de 100 cm, unión reductora, filtro de partículas de 15 µm, tubo de muestreo

Fuente: Deighton, M.H. et al. (2014)

3.6.1.3. Construcción Cánister

El Cánister es un contenedor donde se almacenará las muestras eructadas y exhaladas por los animales, por lo cual tiene que ser completamente hermético para garantizar la adecuada conservación de la muestra. Los modelos son muy variados, sin embargo, para el presente estudio se utilizó el Cánister construido de un tubo de alta presión para agua de PVC de 3” con un espesor de 3.9mm, PAVCO® con una medida de 30 cm, los extremos fueron cerrados por tapas de PVC del mismo calibre y en el extremo derecho 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. Para insertar el codo (B-2-ME, Swagelok®); y hembra (B- QC4-B-2PF, Swagelok®)

Una vez armado, se realizaron pruebas de vacío para descartar aquellos que no logran conservar la hermeticidad. Para ello se generó vacío a los cánisters con una bomba de vacío de doble etapa de marca CPS, modelo VP12D. Luego se midió la presión con un manómetro diferencial digital marca Control C, código 3462, con un rango presión de -30 a + 30 psi, resolución 0.02 psi.

3.6.1.4. Adaptación de los animales experimentales

El período de adaptación tuvo una duración de 21 días para cada periodo, donde los 8 ovinos experimentales acostumbradas al uso de las jácquimas y cánisters, así como al manejo del ensayo. Los últimos 15 días de este período corresponden a la adaptación de las cápsulas de permeación.

3.6.1.5. Cálculo de emisiones de metano

La toma de muestra de gases se realizó en cánisters de 2.042 Lt. , a través de líneas de flujo previamente calibrados bajo las condiciones ambientales (0.95-1.1 cc/min), los cánisters fueron despresurizados en el laboratorio con una bomba de vacío (marca CPS, modelo VP12D).

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 a 5°C, luego fueron trasladados para su lectura en el laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Zootecnia de la UNALM

3.6.1.6. Colección de CH₄ y SF₆ en campo

El período de colección de muestras tuvo una duración de 5 días para cada periodo, La colección se realizó cada 24 horas, desconectándose cada cánisters, tomándose los datos como la hora y presión final y alguna observación que hubiese, luego de esto se llevó al laboratorio se presurizo a 800 mbar con nitrógeno ultra puro y se dejó estabilizar por 3 horas.

De esta forma se colectaron las emisiones de los ovinos en estudio, así como aire ambiental (2 muestras por día) para determinar el nivel base de CH₄ y SF₆ (blancos) para este período se trabajó con 16 cánisters y 16 líneas de flujo previamente calibrados y limpiados con nitrógeno ultra puro para remover los gases residuales (2 veces por cánister)

Luego se generó vacío durante 3 minutos por cánister hasta llegar a una presión diferencial de -969 mbar en febrero y -980 mbar en junio.

Los cánisters junto a las líneas de flujo fueron trasladados al área experimental para ser colocados en los animales (11:00 a.m.). Las presiones de los cánisters fueron registradas tanto a la entrada como a la salida del período de muestreo (24 horas).

Dado que las líneas de flujo fueron calibradas para un llenado del 300% de la capacidad del cánister, cualquier presión final fuera del rango de generaba el descarte de la muestra, ya que valores por debajo de 380 indicaban posibles fugas y valores por encima de eran indicadores de posibles obstrucciones del sistema. Los cánisters con las muestras fueron trasladados al laboratorio.

3.6.1.7. Colección de CH₄ y SF₆ en laboratorio

Una vez llegados los cánisters al laboratorio, fueron sobre presurizados con nitrógeno ultra puro y se dejaban reposar por 3 horas. Durante ese lapso de tiempo se prepararon los viales Perkin Elmer de cromatografía de 22 ml para el submuestreo. Estos fueron ensamblados con un crimpador automático Perkin Elmer de 20 mm, para luego ser sometidos a vacío por 3 minutos con una bomba CPS, modelo VP12D y un Loop de vacío de viales.

Para comprobar la calidad de sellado y hermeticidad del vial luego del vacío, se realizó un muestreo al azar de 2 viales, los cuales se sumergieron en agua y se les insertaba una aguja.

Si el vacío era bueno, el vial se llenaba con agua sobrepasando el cuello del vial, de no ser el caso, el lote de viales crimpados se descartaba.

Pasadas las tres horas de realizada la presurización con nitrógeno de los cánisters con muestra, se procedía a realizar el submuestreo con una línea de muestreo y una jeringa de 50 ml. La línea de muestreo consistió en una manguera de nylon de 1/4" con un conector macho Swagelok® (B-QC4-D-200) por un extremo y una unión Swagelok® de 1/4 a 3/8" (B-600-1-4) por el otro, adicionalmente se utilizó silicagel con indicador para retener la posible humedad de las muestras.

Para realizar el sub-muestreo se usó dos viales de 20 ml, por cada cánister, se eliminó los primeros 50 ml con una jeringa de la misma medida y se almaceno los 50ml en un vial, y otros 50ml como réplica, fueron aseguradas con silicona líquida especial para autos con la finalidad de evitar fugas. Todas las muestras en viales fueron refrigeradas a 4°C durante el período de colección para su posterior análisis por cromatografía.

3.6.1.8. Cromatografía de gases

Por medio de la cromatografía de gases se midió las concentraciones de CH₄ (ppm) y SF₆ (ppt) mediante la inyección manual de las muestras (0.6 ml), utilizando un cromatógrafo de gases Agilent technologies, modelo 7890B, equipado con inyector directo.

La medición de CH₄ se realizó con un detector de ionización de flama (FID) con una sensibilidad menor o igual a 1.4 pico gramos, mientras que la medición de SF₆ se realizó con un micro detector de captura de electrones (ECD), ambos detectores fueron de la 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 \leq 1.4 pico gramos. La temperatura del detector fue de 250°C utilizándose helio como gas portador (10 ml/min), hidrógeno como gas combustible (40 ml/min) y aire como gas oxidante (350 ml/min).

La medición de SF₆ se realizó con un micro detector de captura de electrones (ECD) de la marca Agilent technologies. La temperatura del detector fue de 200°C utilizándose nitrógeno como gas portador (30 ml/min).

Así mismo, se realizó la calibración con un estándar (Scott-Marrin Inc.) de concentración conocida, 48.7 ppm de CH₄ y 237.9 ppt de SF₆, el tiempo de retención del CH₄ y SF₆ fue de 1.5 y 2.9 minutos respectivamente. El tiempo de retención del metano fue 2.75 minutos. Así mismo se realizó la calibración con un estándar de concentración: SF₆: 237.9 ppt y CH₄: 48.7 ppm. Las verificaciones de rutina se realizaron con el estándar al empezar las lecturas y al finalizar grupo de 26 lecturas incluidas los blancos.



Figura 9: línea de flujo puesta en el animal colectando gas por el lapso de 24 horas



Figura 10: animal en jaula individual con el equipo de colección



Figura 11: al a derecha retiro del cánister y lectura de la presión final, al cabo de 24 horas de colección y ala izquierda submuestreo de gases en viales de 20ml

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 todo corregido por los pesos moleculares según la siguiente formula:

$$CH_4 \left(\frac{gr}{día} \right) = T_{PSF_6} * \frac{[CH_4] - [CH_4_{amb}]}{[SF_6] - [SF_6_{amb}]} * \frac{SF_6PM}{CH_4PM}$$

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).

$$[Gas\ c] = [Gas\ crom] \frac{P_3}{P_2 - P_1}$$

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

3.7. Procedimiento experimental

Se estudiaron dos tratamientos:

- T1: Ración con alto nivel energético con 50 % Carbohidratos no estructurales.
- T2: Ración con bajo nivel energético con 30 % Carbohidratos no estructurales.

Cada animal constituyó una unidad experimental, por lo que cada tratamiento se designó al azar, los cuales tuvieron la misma probabilidad de corresponder a los animales y periodos.

En la tabla 3 se muestra el croquis experimental de los dos tratamientos con cuatro unidades experimentales cada uno, subdividido en cuatro periodos con cinco observaciones cada uno.

Cuadro 4: Secuencia experimental con respecto a la dieta y recojo de muestras

	1 periodo		2 periodo		3 periodo		4 periodo	
Ovinos	Adaptación a la dieta (21 días)	Muestreo (10 días) *	Adaptación a la dieta (21 días)	Muestreo (10 días) *	Adaptación a la dieta (21 días)	Muestreo (10 días) *	Adaptación a la dieta (21 días)	Muestreo (10 días) *
4	T1		T2		T1		T2	
4	T2		T1		T2		T1	

Tratamientos: T1: Ración con alto nivel energético con 50 % Carbohidratos no estructurales, T2: Ración con bajo nivel energético con 30 % Carbohidratos no estructurales.

Las muestras de gas (CH₄ y SF₆) se tomarán dejando un día (día 1, 3, 5, 7,9) y los días (2, 4, 6, 8,10 se tomarán las muestras de heces)

En cada tratamiento se utilizó cuatro animales que fueron seleccionados al azar cada ovino constituyo una unidad experimental

3.8. Análisis estadístico

Cuadro 5: Distribución de los tratamientos.

Animal								
Periodo	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8
I	30%	50%	30%	30%	50%	30%	50%	50%
II	50%	30%	50%	50%	30%	50%	30%	30%
III	30%	50%	30%	30%	50%	30%	50%	50%
IV	50%	30%	50%	50%	30%	50%	30%	30%

Las cifras porcentuales están referidas a los niveles de carbohidratos no estructurales en la ración. X_i: identificación de cada ovino. (i: 1,2,3,4,5,6,7,8)

3.8.1. Identificación de variables

- a) Consumo de materia seca expresado como porcentaje de peso vivo (gMS/100 kg P.V.) y por unidad de peso metabólico (gMS/W^{0.75})
- b) Porcentaje de alimento digerido.
- c) Ganancia de peso (g/día)
- d) Emisiones de metano por día (g CH₄/ovino/día).
- e) Emisiones de metano por % peso vivo consumido.
- f) Emisiones de metano por ganancia de peso vivo (g CH₄/kg/día)
- g) Emisiones de metano unidad de consumo (g CH₄/kg MS).
- h) Emisiones de metano unidad de consumo digestible (g CH₄/kg MSd).
- i) Emisión de metano por kg de materia seca digerida.
- j) Producción de CH₄ como % de la EB ingerida (Y_m).

3.8.2. Diseño estadístico y modelo aditivo.

Los resultados del experimento fueron analizados bajo el diseño de cambio simple en el cual la variación entre animales es controlada por la disposición experimental, según este diseño cada animal recibe sucesivamente todos los tratamientos en 4 etapas sucesivas, lo que aumenta la precisión del estudio debido a que la participación de todos los tratamientos en cada unidad experimental elimina el error de variabilidad entre unidades. El arreglo factorial fue de 2 x 4 con 4 repeticiones. Los factores fueron los niveles de energía y carbohidratos no estructurales de la dieta, animales por dieta, periodo.

El análisis de varianza se realizó aplicando el procedimiento ANOVA del programa SAS 9.4 y la diferencia de las medias empleando la prueba de Duncan.

El Modelo Aditivo Lineal General aplicado es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + A_k + E_{ijk}$$

- Y_{ijk} : La observación del i-ésimo tratamiento en el j-ésimo periodo y en el k-ésimo animal.
- μ : El efecto de la media poblacional de la variable de respuesta.
- T_i : El efecto del i-ésimo tratamiento.
- P_j : El efecto del j-ésimo periodo.
- A_k : El efecto del k-ésimo animal.
- E_{ijk} : El efecto de la interacción del i-ésimo tratamiento en el j-ésimo periodo y en el k-ésimo animal.

Análisis de la Varianza para el modelo

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

$$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_t$$

Ha: al menos un efecto de un tratamiento es diferente de los demás.

- El efecto fijo del nivel energético, será comparada a través del test de medias de *t-student*.
- Análisis de correlación entre variables cuantitativas.
 - a. CH4 g/Kg. MS consumida.
 - b. CH4 g/Kg. Ganancia de peso

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Mediciones en el Alimento

4.1.1. Valor nutritivo de la ración de los cuatro periodos

Los resultados de porcentaje de ceniza y materia orgánica para los cuatro periodos se muestran en el anexo 15.

a) Digestibilidad materia seca consumida:

Los resultados de porcentaje de ceniza y materia orgánica para los cuatro periodos se muestran en el anexo15.

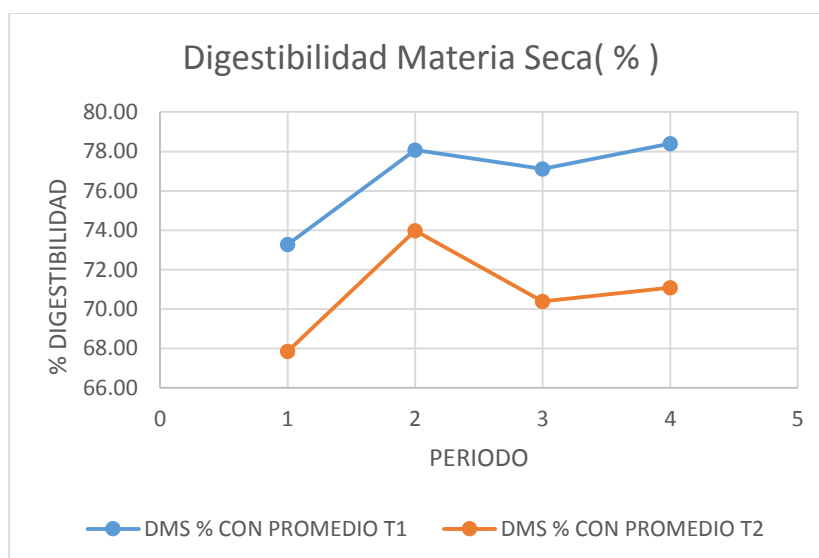


Figura12: Porcentaje digestibilidad de la materia seca consumida en los cuatro

Por lo observado en la Figura 15, al evaluar el efecto del consumo de materia seca en la ración con alto nivel energético de 50% de carbohidratos no estructurales, encontramos que también el porcentaje de digestibilidad aumenta y disminuye con la ración baja en energía de 30% de carbohidratos no estructurales; notándose curvas similares en tendencia en los cuatro periodos, las mismas que no llegan a cruzarse.

Cuadro 6: Porcentaje de digestibilidad por tratamiento

<i>Tratamiento</i>	% Digestibilidad	
	T1	T2
T1(50% CNE)		
T2(30% CNE)	76.7 ^a	70.8 ^b

Las letras diferentes significan diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$)

CNE: Carbohidratos no estructurales

T1: ración con alto nivel energético 50% de carbohidratos no estructurales T2: ración con bajo nivel energético de 30% de carbohidratos no estructurales

En el cuadro 6 se indica que existen diferencias significativas entre los dos tratamientos la ración con 50% de carbohidratos no estructurales siendo superior con 76.7% y se observó una disminución cuando consumían la ración con bajo nivel energético de 30% de carbohidratos no estructurales siendo de 70.8%.

4.2. Parámetros productivos de los animales experimentales

Cuadro 7: Consumo y ganancia de peso en los cuatro periodos experimentales

<i>variable</i>	Tratamiento	
	T1:50% CNE	T2:30% CNE
Consumo de Materia Seca (kg MS)	1.53 ^a	1.47 ^a
Consumo g MS /W ^{0,75}	89.6 ^a	87.6 ^a
Consumo % PV	3.6 ^a	3,20 ^b
Ganancia de peso kg/día	0.13 ^a	0.07 ^b

Las letras diferentes significan diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$)

CNE: Carbohidratos no estructurales

T1: ración con alto nivel energético 50% de carbohidratos no estructurales T2: ración con bajo nivel energético de 30% de carbohidratos no estructurales

4.2.1. Consumo de materia seca

Los resultados de consumo en los cuatro periodos experimentales se muestran en el Cuadro 7, se puede apreciar que los ovinos presentan consumos estadísticamente similares con las dos raciones, aunque numéricamente si existen diferencias, se encontró que la ración con alto nivel energético que contiene 50% de carbohidratos no estructurales es mayor con respecto a la dieta con bajo nivel energético con 30% de carbohidratos no estructurales.

En el consumo de materia seca expresado por unidad de peso metabólico (g MS/W₀, 75) no se observó superioridad estadística entre tratamientos.

4.2.2. Consumo de materia seca (CMS)

Los resultados de consumo de alimento por porcentaje de peso vivo en los cuatro periodos experimentales se muestran en el Cuadro 7, fue altamente significativa entre los tratamientos siendo de 3.6 % con alto nivel de energía (50% de carbohidratos no estructurales) y 3.2% con bajo nivel de energía (30% de carbohidratos no estructurales).

En el presente estudio se encontró que el CMS en los cuatro periodos se encuentra dentro de los rangos normales como se observa en el Anexo17, el cual está en el rango de 3.07 a 3.71 % PV para la primer periodo; 3 y 3.9 % PV para la segundo periodo; 3.28 y 3.8 % PV para la tercer periodo; 3.2 y 3.8 % PV para la cuarto periodo siendo superior con la ración con alto nivel energético (50% de carbohidratos no estructurales).

El consumo de MS en porcentaje del peso vivo (PV) está de acuerdo con lo propuesto por el NRC (1987), el consumo diario de MS en relación con el peso vivo (W, kg), en condiciones óptimas de calidad y cantidad del alimento, corresponde a un porcentaje que varía entre 2,5 y 4,5% del peso corporal, en ovinos esta cifra es cercana al 3,5%, con pesos vivos inferiores a 45 kg, el consumo de MS en términos de porcentaje en relación con el peso vivo es del orden de 4,0%.

Si comparamos con otros trabajos realizados con animales de la misma raza y con valores similares en la cantidad de nutrientes digestibles totales (NDT) se encontrarón que el consumo por porcentaje de peso vivo fue de 4,6% Flores (1977).

4.2.3. Ganancia de peso

De acuerdo con lo encontrado en el Cuadro 7. podemos decir que la ganancia de peso con la dieta con alto nivel energético de (50 % carbohidratos no estructurales) siempre fue superior , encontrándose diferencias significativas entre estas ,con una ganancia de peso diaria de 0.13g/día (T1) vs 0.07g/día (T2) y con relación a otros trabajos realizados en nuestra realidad en animales de la misma raza y con valores similares en la cantidad de nutrientes digestibles

totales (NDT) encontramos que la ganancia de peso con una dieta con alta cantidad energética (60% NDT) fue de hasta 0.18g (Chumpitaz .1975)

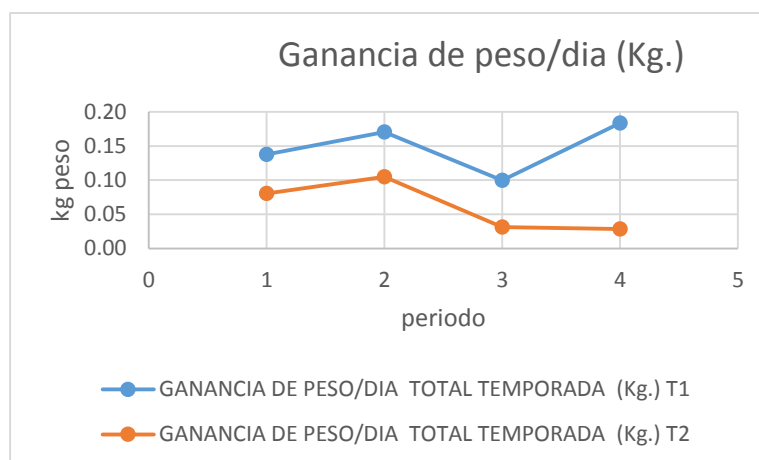


Figura 13: Ganancia de peso /día en los cuatro periodos

Por lo observado en la Figura 13, al evaluar el efecto del Tratamiento sobre la ganancia de peso se observa que las curvas tienen similar tendencia y no llegan a cruzarse, obteniendo mayor ganancia de peso en los animales que consumen la ración con mayor cantidad de carbohidratos no estructurales.

4.3.Emisiones de metano entérico

Las emisiones de metano están influidas por diferentes factores de los cuales se evaluó la interacción de la dieta, Lascano y Cárdenas, (2010), mencionan que la proporción de concentrado en la dieta necesaria para lograr el efecto mitigador debe ser superior al 50%, Pinares-Patiño et al. (2013) la mayor emisión está determinada por el tipo de fermentación generada y por la retención más prolongada del material fibroso.

Cuadro 8: Emisión de metano entérico promedio en ovinos

Emisión de CH ₄ entérico	Tratamiento	
	T1:50% CNE	T2:30% CNE
g CH ₄ /d	36.63 ^a	39.13 ^a
g CH ₄ /kg CMS	24.2 ^a	26.81 ^a
g CH ₄ /kg CMS digestible	31.76 ^b	38.51 ^a
Energía perdida en forma de metano (Mcal)	0.48 ^a	0.52 ^a
Y _m (%)	8.13 ^a	9.14 ^a

Las letras diferentes significan diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$)

Ym: Fracción de la EB destinada a la producción de metano. *55.65 MJ/kg de CH₄

CNE: Carbohidratos no estructurales

T1: ración con 50% de carbohidratos no estructurales **T2:** ración con bajo nivel energético de 30% de carbohidratos no estructurales

4.3.1. Emisión de metano /día (g CH₄/día)

Por lo observado en el cuadro 8. La producción de metano entérico en ovinos encontrado varió entre 36.63 a 39.13g. CH₄/día en los cuatro periodos experimentales, no se encontró diferencias significativas entre tratamientos.

Beauchemin y McGinn (2006) reportaron que el experimento con ganado vacuno alimentados con dietas alto contenido de grano informaron, que no encontraron efectos de la Calidad alimento en relación a la emisión de CH₄ / kg DMI, y solo un pequeño efecto del nivel alimentación, con diferencia a lo encontrado por Boadi y Wittenberg (2002) quienes reportaron un aumento en CH₄ por unidad de consumo a medida que disminuía la calidad de los forrajes. Reportado por , Boadi y Wittenberg (2002).

Las producciones medias de CH₄ (g /día) en este estudio fue relativamente más alto que los reportados de los rangos reportado en la literatura Blaxter y Clapperton (1965); Pelchen y Peters (1998); Ulyatt et al. (1999), Ulyatt et al. (2002), en la literatura Pelchen y Peters (1998), expone que los las diferencias podrían ser atribuidas a los efectos de la alimentación ad libitum. Blaxter y Clapperton (1965), a pesar de que técnica el trazador utilizada para medir CH₄, produce valores de CH₄ ligeramente más bajos Johnson y Johnson (1994); McCaughey et al. (1999), pero una variación relativamente mayor Pinares-Patiño (2000) en comparación con la indirecta calorimetría.

Molano y Clark (2008) determino que las emisiones diarias de CH₄ variaron entre ovejas de 10.5 g / día a 35.9 g / día, Respecto a la emisión absoluta (g metano/animal/día), la relación con el nivel de consumo es positiva, pero se caracteriza por una alta variabilidad entre animales Lassey et al. (1997).

En ensayos realizados en Nueva Zelanda con ovejas pastoreando pasturas de excelente calidad, al respecto Lasseby et al. (1997) encontraron que la cantidad absoluta de metano tendía a aumentar a medida que el consumo aumentaba, pero que el 87% de esa variación se debía a diferencias entre animales.

Estos resultados se mantienen cuando la producción es expresada en g/kg PV la reducción en la producción de CH₄ observada con el uso de podría estar atribuida a que estos inhiben la actividad enzimática, disminuyen las poblaciones de protozoarios y bacterias celulíticas y forman enlaces con las proteínas de la ración, reduciendo la degradación de la proteína ruminal McSweeney et al. (2001); PinaresPatiño et al. (2003^a); Jakhmola et al. (2010).

Los resultados del estudio nos dan un aproximado entre 13 y 14 kg de CH₄ por oveja al año lo que es mucho mayor a lo reportado por Mbanzamihiigo *et al.* (2002) con una emisión ruminal de 9 kg de CH₄ por oveja al año.

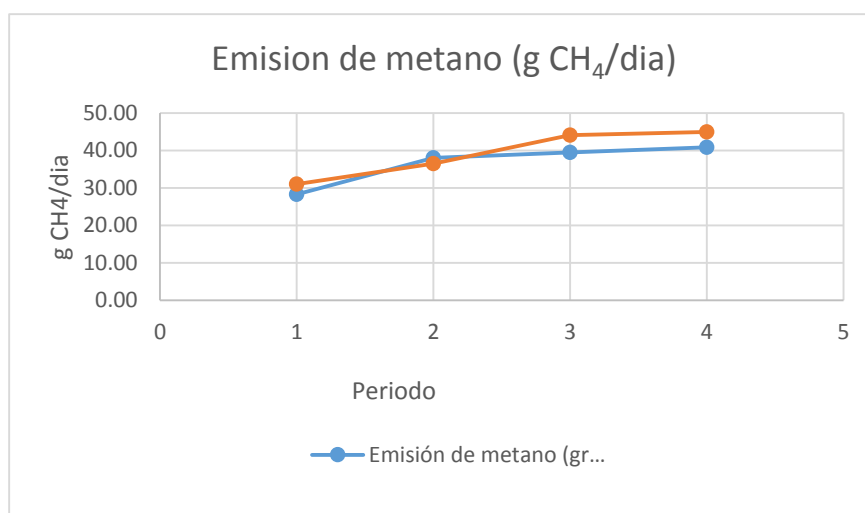


Figura 14: Emisión de CH₄ (g CH₄/día)

Por lo que se observa en la Figura 14 la tendencia de emisión de metano siempre es la misma, siendo superior con la dieta con mayor número de carbohidratos no estructurales.

En función de lo expuesto, Van Nevel y Demeyer (1995) concluyeron que toda aquella intervención dietaria (cantidad/calidad) que produjera una alteración en los perfiles de ácidos grasos volátiles producidos a nivel ruminal (más propionato y menos acetato) impactaría sobre la producción de metano.

4.3.2. Emisión de metano por kg de materia seca consumida (g CH₄/día)

Por lo observado en el cuadro 8 se puede decir que la cantidad de metano emitida con el consumo de las dos raciones no hay diferencias significativas solo que las emisiones producidas por ovinos alimentados con la dieta de mayor numero de carbohidratos no estructurales es ligeramente menor con 24.2 g/día vs 26.8g/día de los alimentados con la ración con menor porcentaje de carbohidratos no estructurales.

Según lo reportado al incrementarse el consumo, la tasa de pasaje también se ve incrementada y se reduce el tiempo de exposición del material fibroso a los microorganismos metanogénicos, Jhonson y Jhonson (1995), Molano y Clark (2008), la emisión de CH₄ es mayor cuando el animal incrementa su CMS, pero es menor la emisión de CH₄ por unidad de consumo. Sin embargo, Blaxter y Clapperton (1965) mencionan que esta lógica no se cumple con dietas de baja digestibilidad, por ello un incremento en el CMS no tendrá un efecto significativo en la producción de metano cuando es expresado como proporción del consumo.

Se sabe que cuando aumenta el nivel de alimentación, la producción de metano se incrementa, sin embargo, la emisión por unidad de consumo disminuye Blaxter y Wainman (1961); Blaxter y Clapperton (1965); Johnson y Johnson (1995), esto debido a que una mayor ingesta acelera la tasa de paso del alimento, lo cual disminuye el tiempo de fermentación ruminal afectando la degradabilidad de la dieta Hindrichsen et al. (2006); McAllister et al. (1996); Pinares-Patiño et al. (2003a). Así mismo, las dietas de alta calidad y digestibilidad generan menores emisiones de CH₄, ya que su fermentación desvía los H₂ para la síntesis del ácido propiónico, ya que estas moléculas intervienen directamente en la producción de CH₄ (Van Soest 1994).

Molano y Clark (2008) encontraron que la emisión de metano entérico estuvo altamente correlacionada con la cantidad de consumo de materia seca en ovinos con edad y peso similar, teniendo una digestibilidad del alimento de 62.5% y 75.3% y las emisiones medias de CH₄ por unidad de DMI fueron de 23,7 y 22,9 g / kg CMS, mientras tanto Vélez et al. 2017 bajo condiciones de pastoreo encontró que la emisión diaria de CH₄ en el grupo pastura natural y Pastura natural más suplementación de 39.30 y 28.80 g./CH₄/día respectivamente, de otro lado, el consumo de materia seca expresada como kg MS/CH₄, fue de 26.66 y 16.14 (g/día)

La gran variabilidad entre la emisión diaria de metano producida por los ovinos se puede atribuir a la ingesta variable. Esto parece sugerir una diversidad apreciable de la respuesta metano genética a la digestión, y puede ser importante en la búsqueda de estrategias para controlar las emisiones de este gas de efecto invernadero Lassey et al . (1997)

Una fuerte variabilidad entre animales respecto a la cantidad de metano emitida por día Blaxter y Clapperton (1965) ; Lassey et al. (1997); Mbanzamihigo et al. (2001). Lassey et al. (1997) encontró en una misma pastura y utilizando 50 animales, que unos eran más “emisores” que otros, constatándose emisiones de 16 y 22.5 g CH₄/día en los animales poco emisor y muy emisor, respectivamente.

Estos autores sugieren que estas variaciones pueden explicarse por diferencias genéticas o en las poblaciones microbianas y en el caso de los ovinos, la selectividad también puede estar jugando un rol importante pues la mayor emisión observada en el presente estudio estaría determinada por la naturaleza y tipo de fermentación generada y, por consiguiente, por la retención más prolongada del material fibroso Pinares-Patiño et al. (2013).

Los resultados de emisión de metano entérico tuvieron variaciones entre animales esto puede deberse a que la técnica del trazador de SF₆ posee variaciones elevadas comparadas con otras metodologías como las cámaras respiratorias Grainger et al. (2007) ; McGinn et al., (2006). Boadi y Wittenberg (2002). 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 el presente estudio obtuvimos tasas de permeación desde 5,1 mg hasta 6.4 mg SF₆/día.

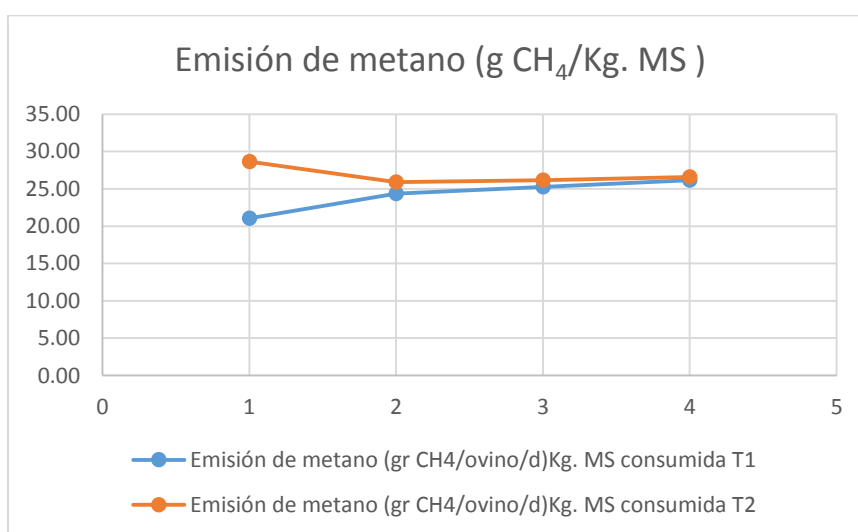


Figura 15: Emisión de metano por kg de materia seca consumida (g CH₄/día)

Por lo observado en la figura 15 la emisión de metano por consumo de materia seca se mantuvo constante y con una misma tendencia la emisión de metano por parte de los ovinos alimentados con la ración de mayor porcentaje de carbohidratos no estructurales siempre fue superior numéricamente.

4.3.3. Emisión de metano/kg MS digerida

La producción de metano entérico por kg de MS digerida varió significativamente siendo la ración con alto nivel energético 50% de carbohidratos no estructurales (T1) la que emitió menos con 31.7g/CH₄/día versus 38.51g/CH₄/día con la ración de bajo nivel energético con 30% de carbohidratos no estructurales (T2), así mismo se observó que no hubo interacción del periodo, pero si se registró diferencias significativas entre animales, en comparación con lo reportado en otros estudios se encontró una mayor emisión. Las raciones no indujeron cambios suficientes en el ambiente del rumen, que podría afectar la producción de CH₄ / kg DMS.

La calidad en CH₄/kg DMI y las emisiones diarias de CH₄ aumentaron con niveles crecientes de DMS.

Islam et al. (2000) en un ensayo con cabras alimentadas con ryegrass, pellets de alfalfa y suplementado con maíz reportaron resultados similares.

Sin embargo, Boadi y Wittenberg (2002) reportaron un aumento en CH₄ por unidad de consumo a medida que disminuía la calidad de la ración y las dietas no indujeron cambios suficientes en el ambiente ruminal.

Según lo reportado por Gidlund *et al.* (2015) una mayor suplementación con proteína disminuye las emisiones de metano, dado que la fermentación de la proteína produce de 30 a 50% menos metano que la fermentación de los carbohidratos Bannink *et al.* (2009), esto nos puede explicar porque ligeramente la emisión con el tratamiento 1, (50% Carbohidratos no estructurales) fue menor, la emisión de metano está estrechamente relacionada al consumo de materia seca, como resultado de un incremento en el consumo (Pinares-Patiño et al. 2003b).

En el presente estudio, el rango de valores de CH₄ por unidad de DMI a través de ovejas (de 31.76 a 38.71 g CH₄ / kg DMI), fue ligeramente mayor que los valores reportados previamente en Nueva Zelanda por Clark et al. (2005), donde CH₄ por unidad de consumo fue igual a 20.9 gCH₄.

4.3.4. Energía perdida en forma de metano

En el presente estudio se estima que la energía perdida en metano consumiendo la ración con alto nivel energético (50% carbohidratos no estructurales) es de 0.48 Mcal/g de alimento consumido versus 0.52 Mcal/g con bajo nivel energético (30% de carbohidratos no estructurales) siendo estadísticamente iguales.

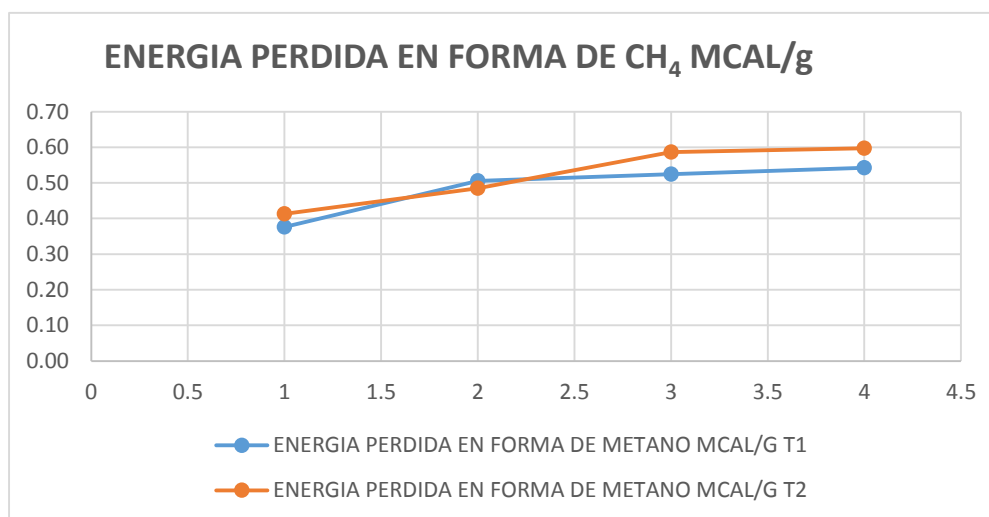


Figura 16: Pérdida energética en los cuatro periodos evaluados con las dos raciones (T1: Ración con alto nivel energético 50% Carbohidratos no estructurales, T2: Ración con bajo nivel energético 30% Carbohidratos no estructurales)

La pérdida energética por visto en la figura 16 se mantuvo con una tendencia constante y siempre fue mayor con la ración con 30% de carbohidratos no estructurales. Similares resultados reporto Boadi y Wittenberg (2002) reportaron un aumento en la energía perdida como ch₄ cuando la calidad del alimento disminuyó.

4.3.5. Producción de CH₄ como % de la EB ingerida Y_m (%)

El metano expresado como porcentaje de la energía bruta ingerida Y_m (Fracción de la EB destinada a la producción de metano. *55.65 MJ/kg de CH₄), por observado en el cuadro 8 entre tratamientos no existen diferencias significativas pero se encontró que fue

numéricamente la ración con bajo nivel energético de 30% carbohidratos no estructurales fue superior con 9.14% vs 8.13% del tratamiento con alto nivel energético con 50% carbohidratos no estructurales, así mismo no hubo efecto del periodo ,esto se puede deber a la calidad y digestibilidad del alimento ,como se sabe afectan en mayor medida al Ym como mencionan Harper et al. (1999), IPCC (2007).

Los resultados de este estudio son superiores a los reportados por Molano et al. (2008) cuya pérdida energética en forma de CH₄ fue de 4.9 a 9.5% Ym, los cuales incluso fueron ligeramente mayor que los valores reportados previamente en Nueva Zelanda por Clark et al. (2003), donde CH₄ por unidad de consumo fue igual a 20.9g CH₄ y GE perdió como CH₄ fue 5,1%. Así mismo, los resultados encontrados en este estudio se encuentran dentro del rango reportado por Johnson y Johnson (1995), que va de 2 a 12%, pero son superiores del rango propuesto por el IPCC (2006) que va de 2 a 7.5%, Cabe resaltar que los inventarios de gases de efecto invernadero realizados por el MINAM (2016) utilizan un valor por defecto de Ym de 6% para todos los departamentos del país, valor muy por debajo del encontrado en el presente estudio, pero dentro del rango de lo recomendado por el IPCC (2006).

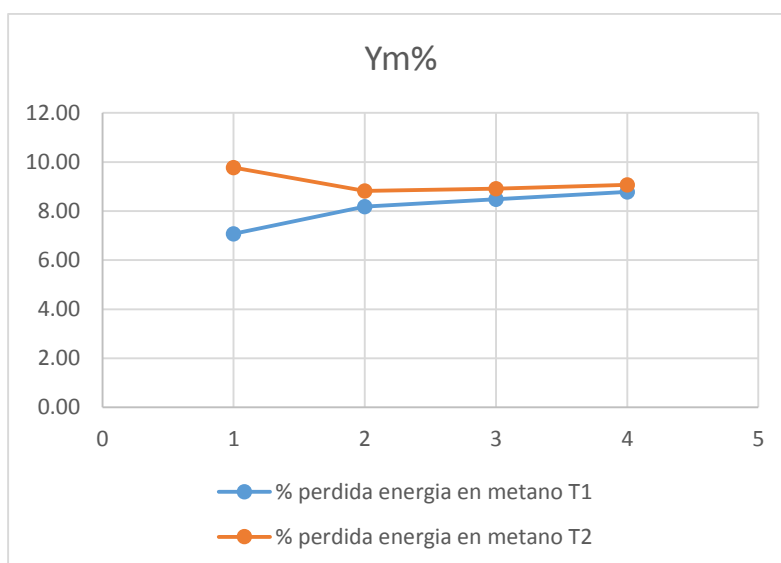


Figura 17: Porcentaje de pérdida energética en los cuatro periodos evaluados con las dos raciones (T1:50% Carbohidratos no estructurales, T2:30% Carbohidratos no estructurales)

Se puede observar en la figura 17 que la tendencia siempre es superior en la pérdida energética encontrada que hay mayor pérdida energética con el tratamiento de menor nivel energético con 30% de Carbohidratos no estructurales.

4.4. Intensidad de emision

Cuadro 9: Intensidad de medición

variable	Tratamiento	
	T1: 50% CNE	T2: 30% CNE
g CH ₄ /día	36,6 ^a	39,1 ^a
ganancia de peso g/día	138,7 ^a	72,5 ^b

Las letras diferentes significan diferencias significativas entre tratamientos (p<0.05)

Si comparamos la producción de gramos/metano/día por animal de los dos tratamientos no encontramos diferencias significativas, pero si se hace la comparación con respecto a la ganancia de peso, encontramos que con el tratamiento con alto nivel energético con 50% carbohidratos no estructurales es significativamente superior con una ganancia de peso de 138,7g /día versus un 72,5g/día con el tratamiento con bajo nivel energético con 30 % de carbohidratos no estructurales demostrando con esto que la eficiencia del primer tratamiento es mucho mejor.

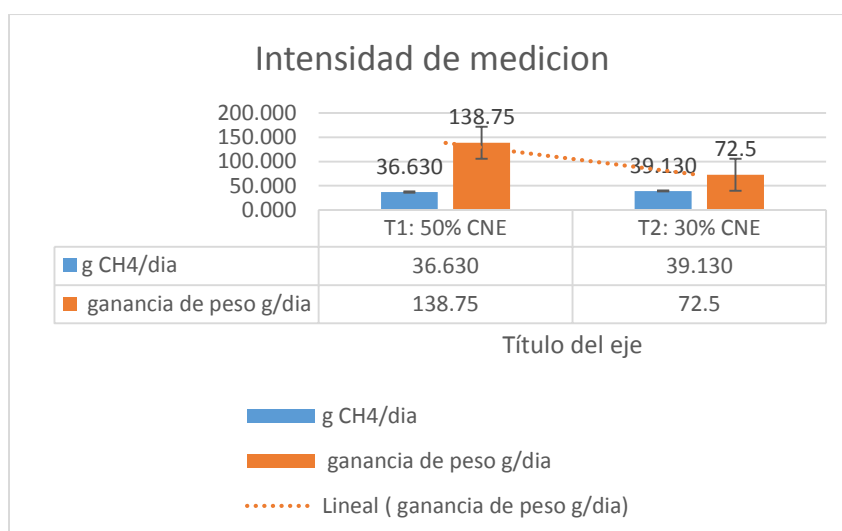


Figura 18: Intensidad de emisión

Kurihara et al. (1999) señalan que la asociación entre ganancia de peso y producción de metano es de tipo curvilíneo, sugiriendo, que con dietas que posibiliten una respuesta animal alta en términos de ganancia de peso, la producción de metano es menor, puesto que se da una asociación lineal entre la relación alimento: ganancia y la producción de metano, lo que presumiblemente puede explicar que, un incremento en la calidad de la dieta sea un medio práctico para reducir la producción de metano, cuando las emisiones de CH₄ son expresadas por kilogramo de carne producida que tendría un efecto mitigador como menciona Jiao et al.(2014).

V. CONCLUSIONES

1. La intensidad de emisión con respecto a la ganancia de peso día fue significativamente superior en los ovinos alimentados con la ración de alto nivel energético con 50% de carbohidratos no estructurales con respecto a la de bajo nivel energético con 30% de carbohidratos no estructurales, lo que hace disminuir el impacto negativo de la emisión de metano por una mayor ganancia de peso.
2. La emisión de CH₄ entérico de ovinos alimentados con una ración con alto nivel energético de 50% de carbohidratos no estructurales versus una con bajo nivel energético con 30% de carbohidratos no estructurales fue de 36.6 y 39.1 g/ovino/día respectivamente.
3. La emisión de CH₄ entérico de ovinos alimentados con una ración con alto nivel energético de 50% de carbohidratos no estructurales versus una con ración con bajo nivel energético de 30% de carbohidratos no estructurales por unidad de consumo fue 24.2 g y 26,8 CH₄/Kg CMS respectivamente.
4. La emisión de CH₄ entérico de ovinos alimentados con ración con alto nivel energético de 50% de carbohidratos no estructurales versus una con ración con bajo nivel energético de 30% de carbohidratos no estructurales por unidad de consumo digestibles fue 31.7 g y 38,5 CH₄/Kg CMSd (P<0.01).
5. El factor de conversión de energía bruta a CH₄ (Y_m) en ovinos se encuentra entre 9.1 y 8.1 %

VI. RECOMENDACIONES

1. Conducir experimentos que contemplen la formulación de dietas con un rango diferencial mayor entre la cantidad de carbohidratos no estructurales y contemplar realizarlos en otros sistemas de crianza en ovinos, para realizar un estudio comparativo de la emisión de metano entérico.
2. Desarrollar ecuaciones de predicción de emisión de metano entérico para nuestra realidad ganadera en base al consumo de materia seca, y calidad de la dieta.
3. Realizar estudio sobre la flora bacteriana presente en la producción de metano.
4. Diseñar un ensayo en el tiempo, para dilucidar si los factores ambientales tienen influencia sobre la emisión de metano entérico.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

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

BANNINK, A., SMITS, M.C.J., KEBREAB, E., MILLS, J.A.N., ELLIS, J.L., KLOP, A., FRANCE, J. AND DIJKSTRA, J. 2009. Simulating the effects of grasslands management and grass ensiling on methane emissions from lactating cows. *J Agr Sci*, 148: 55-72.

BEAUCHEMIN, K. A.; MCGINN, S. M. 2006. Methane Emissions from Beef Cattle: Effects of Fumaric Acid, Essential Oil, and Canola Oil. *Journal Animal Science*, 84: 1489- 1496.

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

BERNDT, A.; BOLAND, T.; DEIGHTON, M.; GERE, J.; GRAINGER, C.; HEGARTY, R.; IWAASA, A.; KOOLAARD, 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 in ruminants. Pag. 166. Lambert, M. Editorial New Zealand Agricultural Greenhouse Gas Research Centre, New Zealand. Use of hexafluoride (SF₆) tracer technique to measure enteric methane emissions from.

BLAS, C., GARCÍA-REBOLLAR, P., CAMBRA-LÓPEZ, M. Y TORRES, A.G. 2008. Contribución de los rumiantes a las emisiones de gases con efecto invernadero. XXIV Curso de especialización FEDNA. Editorial FEDNA. Madrid. pp. 121-150.

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

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

BOADI, D. AND 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 Animal Science. 82: 201-206.

BOADI, D., WITTENBERG, K., MCCAUGHEY, W. 2002. Effects of grain Supplementation on methane production of grazing steers using the sulphur (SF₆) tracer gas technique. Canadian Journal Animal Science, 82(2):151-157.

BUDDLE, B. M., M. DENIS, G. T. ATTWOOD, E. ALTERMANN, P. H. JANSSEN, R. S. RONIMUS, C. S. PINARES-PATIÑO, S. STEFAN, AND D. N. WEDLOCK. 2011. Strategies to reduce methane emissions from farmed ruminants grazing on pasture. Vet. J. 188:11–17

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

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

CLARK, H., PINARES-PATIÑO, C. AND DE KLEIN, C. 2005. Methane and nitrous oxide emissions from grazed grasslands. In: McGilloway, D.A. Grassland: A global resource. Academic Publishers. Wageningen, The Netherlands. pp. 279-293.

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

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

DEIGHTON, M; WILLIAMS, S.; HANNAH, M.; ECKARD, R.; BOLAND, T.; WALES, W. AND 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.

DEIGHTON, M.; WILLIAMS, S.; LASSEY, K.; HANNAH, M.; BOLAND, T.; ECKARD, R. AND MOATE, P. 2014. Temperature, but not submersion or orientation, influences the rate of sulphur hexafluoride release from permeation tubes used for estimation of ruminant methane emissions. 194: 71-80.

DINAMA, 2010. Resumen Ejecutivo Inventario de Emisiones Atmosféricas en Uruguay. Available online: <http://www.mvotma.gub.uy/documentos/documentos-tecnicos.html>.

DINI Y, GERE J, BRIANO C, MANETTI M, JULIARENA P, PICASSO V, GRATTON R, ASTIGARRAGA L. 2012. Methane emission and milk production of dairy cows grazing pastures rich in legumes or rich in grasses in Uruguay. *Animals* 2: 288-300. doi: 10.3390/ani2020288

DUKES, H. H., & SWENSON, M. J. (1977). Fisiología de los animales domésticos. Funciones vegetativas (p. 1054). Madrid: Aguilar.

ELLIS J.L., KEBREAB E., ODONGO N.E., MCBRIDE B.W., OKINE E.K., AND FRANCE J., 2007. Prediction of methane production from dairy and beef cattle. *Journal of Dairy Science* 90:3456–3467 Productive, economic and environmental effects of optimised feeding strategies in small-scale dairy farms in the Highlands of Mexico

DUKES, H. H., & SWENSON, M. J. (1977). Fisiología de los animales domésticos. Funciones vegetativas (p. 1054).

FAO. 2010. Agricultura “climáticamente inteligente”. Políticas, prácticas y financiación para la seguridad alimentaria, adaptación y mitigación. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Roma.

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

FORSTER P M ET AL 2007. Changes in atmospheric constituents and in radiative forcing Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (Cambridge: Cambridge University Press) pp 129–234

GRAINGER, C., Y BEAUCHEMIN, K. (2011). Can enteric methane emissions from ruminants be lowered without lowering their production? *Anim. Feed Sci. Technol.*, 166–167, 308–320. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.021>

GRAINGER, C., CLARKE, T., MCGINN, S., AULDIST, M., BEAUCHEMIN, K., HANNAH, M., WAGHORN, G., CLARK, H., Y ECKARD, R. (2007). Methane emissions from dairy cows measured using the sulfur hexafluoride (SF6) tracer and chamber techniques. *J. Dairy Sci.*, 90, 2755–2766. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2006-697>

GERE J., GRATTON R., 2010. Simple, low-cost flow controllers for time averaged atmospheric sampling and other applications. *Lat. Am. Appl. Res.* 40, 377-382.

GIDLUND H, HETTA M, KRIZSAN SJ, LEMOSQUET S, HUHTANEN P. (2015). Effects of soybean meal or canola meal on milk production and methane emissions in lactating dairy cows fed grass silage-based diets. *J Anim Sci.* 2015; 98(11):8093-8106.

HAMMOND, K.; CROMPTON, L.; BANNINK, A.; DIJKSTRAC, J.; YÁNEZ-RUIZ, D.; O'KIELYE, P.; KEBREABE, E.; EUGÈNE, M.; YU, Z.; SHINGFIELD, K.; SCHWARM, A.; HRISTOV, A. AND REYNOLDS, C. 2016. Review of current in vivo measurement techniques for quantifying enteric methane emission from ruminants. *Animal Feed Science and Technology.* 219: 13–30.

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

Agropecuaria. – Lima: IICA, 2018.

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

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

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

IMMIG I., DEMEYER D., FIEDLER D., VAN NEVEL C., MBANZAMIHIGO L. 1996. Attempts to induce reductive acetogenesis into a sheep rumen. *Arch. Tierernaehr.* 49: 363-370.

INDC. 2015. Contribución prevista y determinada a nivel nacional (iNDC1) de la república del Perú.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA E INFORMÁTICA. Resultados Definitivos. IV Censo Nacional Agropecuario 2012. Lima, Perú; 2013.

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

ISLAM, M.; ABE, H.; HAYASHI, Y.; TERADA, F. 2000. Effects of Feeding Italian Ryegrass with Corn on Rumen Environment, Nutrient Digestibility, Methane Emission,

and Energy and Nitrogen Utilization at Two Intake Levels by Goats. *Small Ruminant Research*, 38: 165-174.

JAKHMOLA RC, PAHUJA T, RAGHUVANSI SK. 2010. Feeding strategies to reduce enteric methane production in ruminants: a review. *Indian J Small Rumin* 16: 1-17.

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

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

JIAO HP, DALE AJ, CARSON AF, MURRAY S, GORDON W, FERRIS CP. 2014. Effect of concentrate feed level on methane emissions from grazing dairy cows. *J Dairy Sci* 97: 7043-7053. doi: 10.3168/jds.2014-7979

JOHNSON, K.; JOHNSON, D. 1995. Methane emissions from cattle. *Journal Animal Science*. 73, 2483–2492.

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

JORDAN, E.; LOVETT, D. K.; MONAHAN, F. J.; CALLAN, J.; FLYNN, B.; O'MARA, F. P. 2006. Effect of Refined Coconut Oil or Copra Meal on Methane Output and on Intake and Performance of Beef Heifers. *Journal Animal Science*, 84 (1): 162-170.

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

KHALIL MAK, SHEARER MJ, RASMUSSEN RA, XU L, LIU JL (2008) Methane and nitrous oxide emissions from subtropical rice agriculture in China. *J Geophys Res* 113: G00A05. doi: 10.1029/2007JG000462

KHALIL, M.A.K. 2000. ATMOSPHERIC METHANE: AN INTRODUCTION. IN: M.A.K. KHALIL (ED.). Atmospheric methane, its role in the global environment. Springer-Verlag. Berlín. pp. 1-8.

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

KNIGHT, T.; MOLANO, G; CLARK, H. AND 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 Experimental Agriculture.* 48: 240–243.

KURIHARA M, MAGNER T, HUNTER RA & MCCRABB GJ (1999) Methane production and energy partition of cattle in the tropics. *Br Jnl Nutr* 81, 227 – 234.

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

LASCANO CE, CÁRDENAS E. 2010. Alternatives for methane emissions mitigation in livestock systems. *R Bras Zootec* 39: 175-182. doi: 10.1590/S1516-35982010001300020

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

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.; 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.

MARTIN, C., MORGAVI, D.P. AND DOREAU, M. 2009. Methane mitigation in ruminants: from microbe to farm scale. *The animal consortium 2009. Animal,* 4: 1-15.

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

MBANZAMIHIGO, L., FIEVEZ, V., DA COSTA-GOMEZ, C., PIATTONI, F., CARLIER, L. AND DEMEYER, D. 2002. Archivos de zootecnia vol. 61 (R), p. 64.

McALLISTER TA, OKINE EK, MATHISON GW, CHENG KJ (1996) Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. Canadian Journal Animal Science 76, 231–243.

McGINN, S.; BEAUCHEMIN, K.; IWAASA, A. AND 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.

MAcHM`ULLER A, KREUZER M (1999) Methane suppression by coconut oil and associated effects on nutrient and energy balance in sheep. Canadian Journal Animal Science 79, 65–72. Nutritional management for enteric methane abatement Australian Journal of Experimental Agriculture 27

MAcHM`ULLER A, SOLIVA CR, KREUZER M (2003B) Methane-suppressing effect of myristic acid in sheep as affected by dietary calcium and forage proportion. The British Journal Nutrition 90, 529–540.doi: 10.1079/BJN2003932

McNaughton, L. R., D. P. BERRY, H. CLARK, C. PINARES-PATINO, S. HARCOURT, AND R. J. SPELMAN. 2005. Factors affecting methane production in Friesian × Jersey dairy cattle. Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod. 65:352–355. Moe, P. W., and H. F. Tyrrell. 1980. Methane production in dairy cattle. Page 59 in Energy metabolism. Proc. 8th Symp. Energy Metab. Butterworths, London, UK.

McSWEENEY CS, PALMER B, MCNEILL DM, KRAUSE DO. 2001. Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. Anim Feed Sci Technol 91: 83-93. doi: 10.1016/ S0377-8401(01)00232-2

MADSEN, J., B. S. BJERG, T. HVELPLUND, M. R. WEISBJERG, AND P.LUND. 2010. Methane and carbon dioxide ratio in excreted air for quantification of the methane production from ruminants. Livestock Sci. 129: 223-227.

MITCHELL, D. HEAVISIDE, C VARDOULAKIS, S. HUNTINGFORD, C. MASATO, G. GUILLOD, B P. FRUMHOFF, P. BOWERY, A. WALLOM, D. AND ALLEN, M. 2016. Attributing human mortality during extreme heat waves to anthropogenic climate change

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

MINAM. 2010. El Perú y el Cambio Climático. Segunda Comunicación Nacional del Perú a la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre Cambio Climático 2010. [En línea] 01 de enero de 2017.

www.biam.minam.gob.pe/novedades/peruycambioclimaticoresumen.pdf

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

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.

MORAND-FEHR, P.; BOYAZOGLU, J. 1999. Present State and Future Outlook of the Small Ruminant Sector. *Small Rumin. Res.*, 34: 175–188.

MOSS, A.R.; JOUANY, J.P. AND NEWBOLD, J. 2000. Methane Production by Ruminants: its Contribution to Global Warning. *Animal Zootechnology*, 49: 231-253.

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

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

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

O'KELLY, J. C., AND W. G. SPIERS. 1992. Effect of monensin on methane and heat productions of steers fed Lucerne hay. *Aust. J. Agric. Res.* 43: 1789-1793.

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

ONU. 1998. Protocolo de Kioto de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático [En línea]. 17 de noviembre de 2016.

<http://unfccc.int/resource/docs/convkp/kpspan.pdf>

PELCHEN, A., & PETERS, K. J. (1998). Methane emissions from sheep. *Small Ruminant Research*, 27(2), 137-150.

PEDERSEN S., BLANES-VIDAL V., JOERGENSEN H., CHWALIBOG A., HAEUSSERMANN HEETKAMP, M.J.W. AND AARNINK, A.J.A. (2008) Carbon Dioxide Production in Animal Houses: A literature review. Summary citation from AGRICOLA, the online catalog of the National Agricultural Library. 10.

PINARES-PATINO CS (2000) Methane emission from forage-fed sheep, a study of variation between animals. Phd Thesis, Massey University, Palmerston North, New Zealand.

PINARES-PATINO CS, BAUMONT R, MARTIN C (2003 ~ A) Methane emissions by Charolais cows grazing a monospecific pasture of timothy at four stages of maturity. *Canadian Journal of Animal Science* 83, 769–777.

PINARES-PATINO CS, ULYATT MJ, HOLMES CW, BARRY TN, LASSEY KR ~ (2003B) Persistence of the between-sheep variation in methane emission. *Journal Agricultural Science, Cambridge* 140, 227–233. Doi: 10.1017/S0021859603003071

PINARES-PATIÑO, C., ULYATT, M., WAGHORN, G., LASSEY, K., BARRY, T., HOLMES, C., & JOHNSON, D. (2003). Methane emission by alpaca and sheep fed on lucerne hay or grazed on pastures of perennial ryegrass/white clover or birds foot trefoil. *The Journal Agricultural Science*, 140(2), 215-226. doi:10.1017/S002185960300306X

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 Agricultural Science, Cambridge*. 140, 205–14.

PINARES-PATIÑO, CS; ULYATT, MJ; LASSEY, KR; BARRY, TN; HOLMES, CW. 2003. Rumen function and digestion parameters associated with differences between sheep in methane emissions when fed chaffed Lucerne hay. *Journal Agricultural Science* 140(2):205-214. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0021859603003046>.

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

PINARES-PATINO, C. AND 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. AND 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.

PLANIFICACIÓN ANTE EL CAMBIO CLIMÁTICO EN PERÚ

https://www.transparency-partnership.net/sites/default/files/peru_gpa_sp.pdf

PULGAR-VIDAL. 2015. <http://gestion.pe/economia/peru-busca-bajar-31-gases-efecto-invernadero-al-2030-2133960>. Consultado el 25 de diciembre de 2015.

RAMÍREZ-RESTREPO CA, TAN C, O’NEILL CJ, LÓPEZ-VILLALOBOS N, PADMANABHA J, WANG J, ET AL 2016. Methane production, fermentation characteristics, and microbial profiles in the rumen of tropical cattle fed tea seed saponin supplementation. *Anim Feed Sci Technol*. 2016; 216:58–67.

REYNOLDS CK, ET AL. (2014) Effects of 3-nitrooxypropanol on methane emission, digestion, and energy and nitrogen balance of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 97(6):3777–3789

RICHMOND AS, WYLIE ARG, LAIDLAW AS AND LIVELY FO 2015. Methane emissions from beef 523 cattle grazing on semi-natural upland and improved lowland grasslands. *Animal* 9, 524 130–137

RUSSELL, J.B. AND WALLACE, R.J. 1997. Energy-yielding and energy-consuming reactions. Eds. Hobson, P.N. & Stewart, C.S. *The Rumen Microbial Ecosystem*, 2ndEd. Blackie Academic and Professional. London, UK. p. 246

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

Ulyatt, M. J., Lassey, K. R., Shelton, I. D., & Walker, C. F. (2002). Methane emission from dairy cows and wether sheep fed subtropical grass dominant pastures in midsummer in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 45(4), 227-234.

VAN NEVEL, C., AND D. DEMEYER. 1995. Feed additives and other interventions for decreasing methane emissions. Pages 329- 349 in *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding*. R. J. Wallace, and A. Chesson (Eds.). VCH, Germany.

VAN SOEST P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant, 2nd.Ed. Cornell University Press, Ithaca, USA.

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

VERMOREL, M. 1995. Emissions annuelles de méthane d'origine digestive par les bovins en France. Variations selon le type d'animal et le niveau de production. *INRA Prod. Anim.* 8 (4): 265–272.

WAGHORN GC, TAVENDALE MH, WOODFIELD DR (2002) Methanogenesis from forages fed to sheep. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* 64, 159–165.

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

WRIGHT ADG, KENNEDY P, O'NEILL CJ, TOOVEY AF, POPOVSKI S, REA SM, PIMM CL, KLEIN L (2004) Reducing methane emissions in sheep by immunization against rumen methanogens. *Vaccine* 22, 3976–3985. Doi: 10.1016/j.vaccine.2004.03.053

VI. ANEXOS

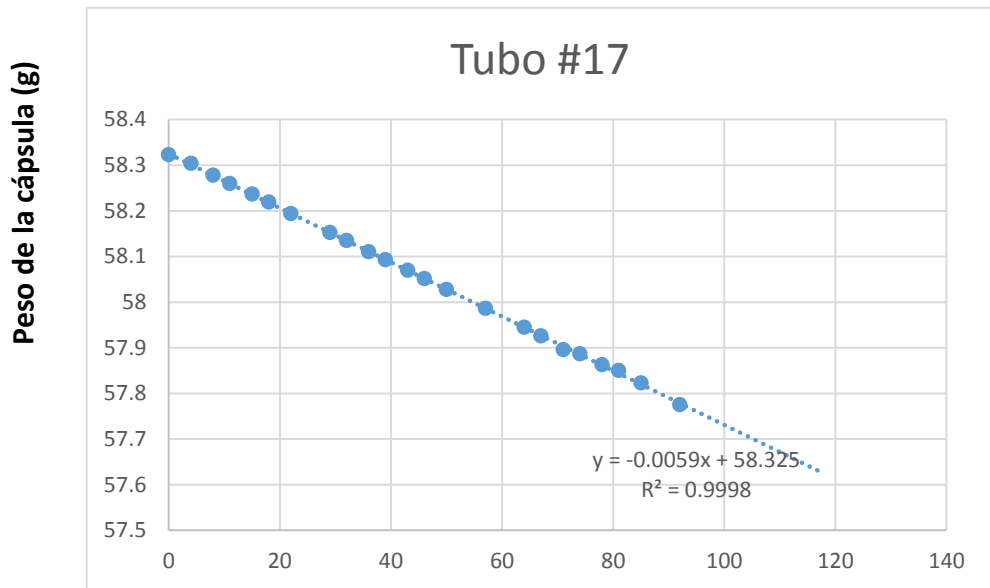
Anexo 1: Características de los animales experimentales.

Código de Ovino	Fecha de nacimiento	Edad (años)	Raza	Peso vivo inicial (Kg)
1	11/11/2015	1.2	Junín	32,6
2	11/12/2015	1.1	Junín	31,8
3	12/11/2015	1.2	Junín	35,5
4	12/11/2015	1.2	Junín	32,7
5	11/11/2015	1.2	Junín	36,8
6	12/11/2015	1.3	Junín	40,1
7	13/11/2015	1.2	Junín	44,3
8	12/11/2015	1.2	Junín	38,8

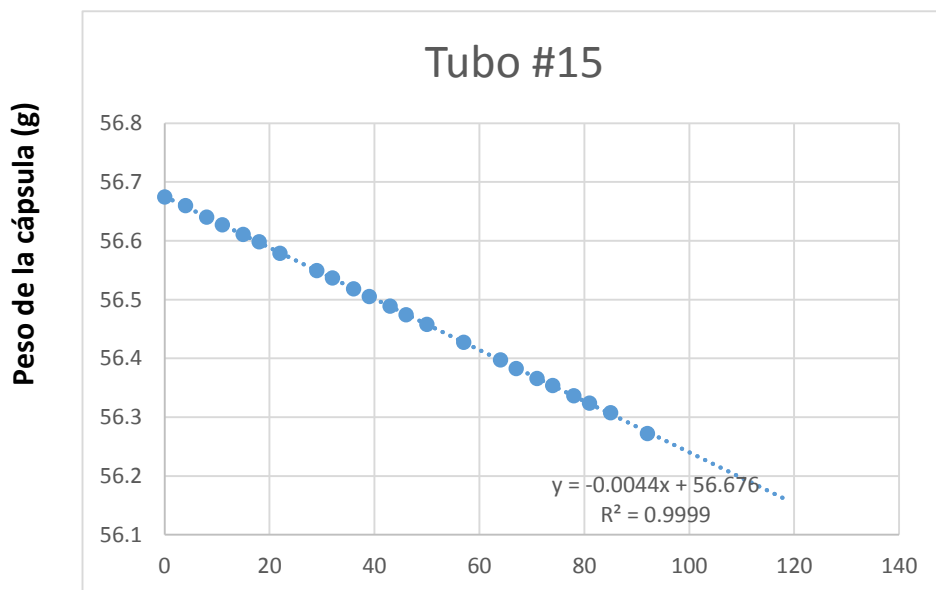
Anexo 2: Características de las cápsulas de permeación seleccionadas.

N° De Tubo Permeación	Tasa de permeación (mg/d)	R²
17	5,95	0.9998
15	5,21	0,9999
13	6,06	0,9999
7	5,94	0.9998
8	5,64	0,9999
26	5,11	0.9999
6	6,45	0,9999
10	6,07	0,9999

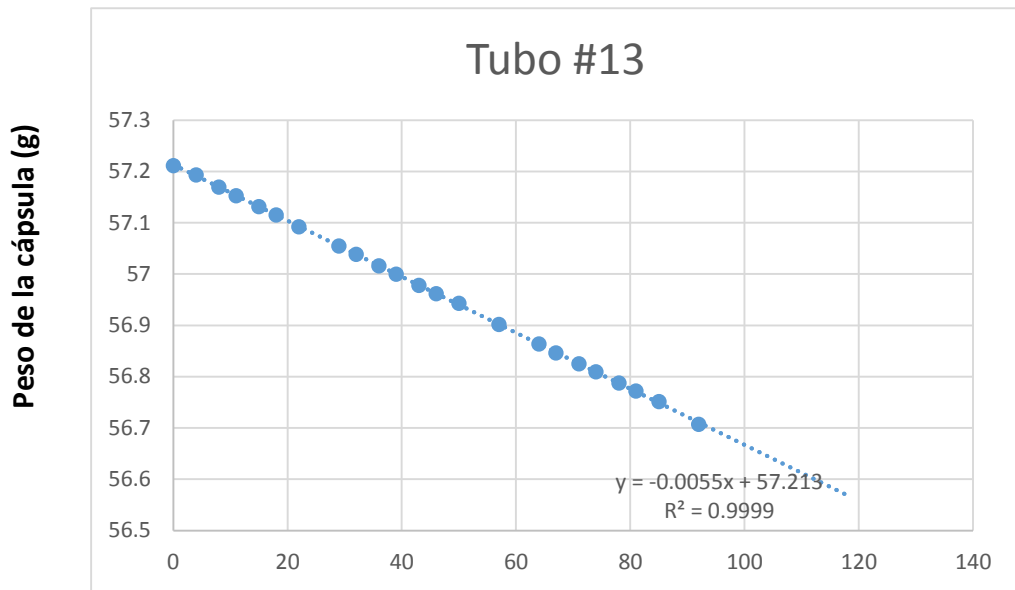
Anexo 3. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 17.



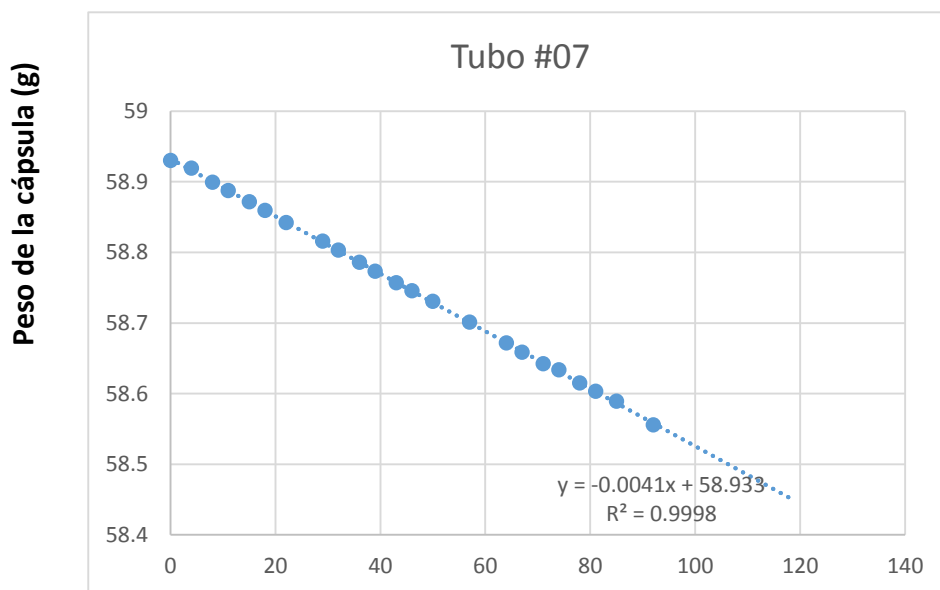
Anexo 4. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 15.



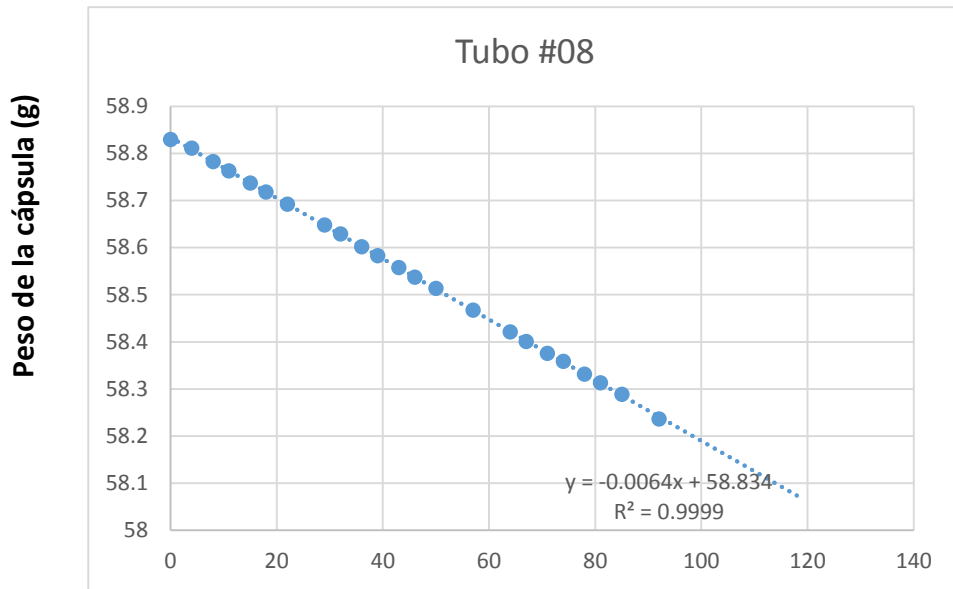
Anexo 5. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 13.



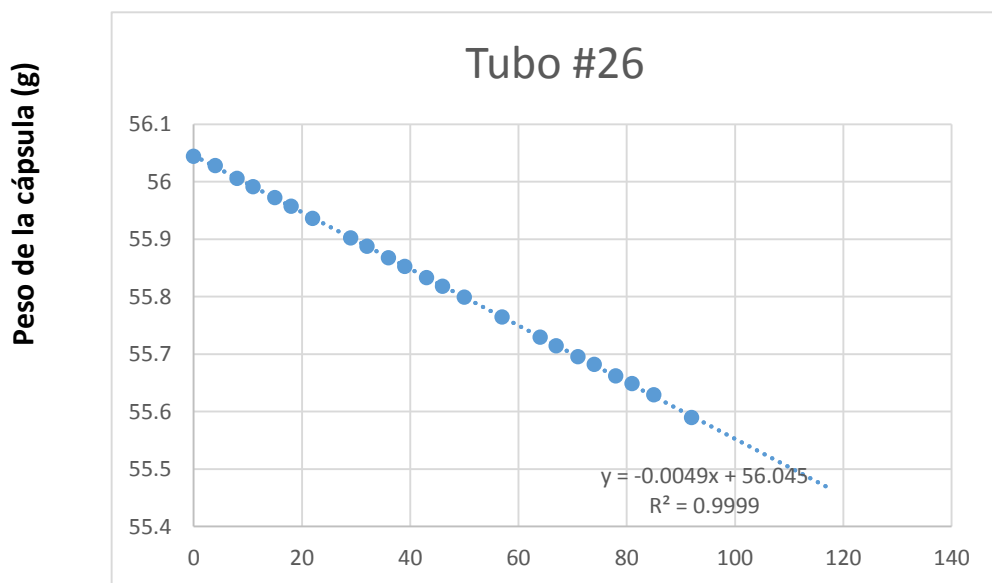
Anexo 6. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 7.



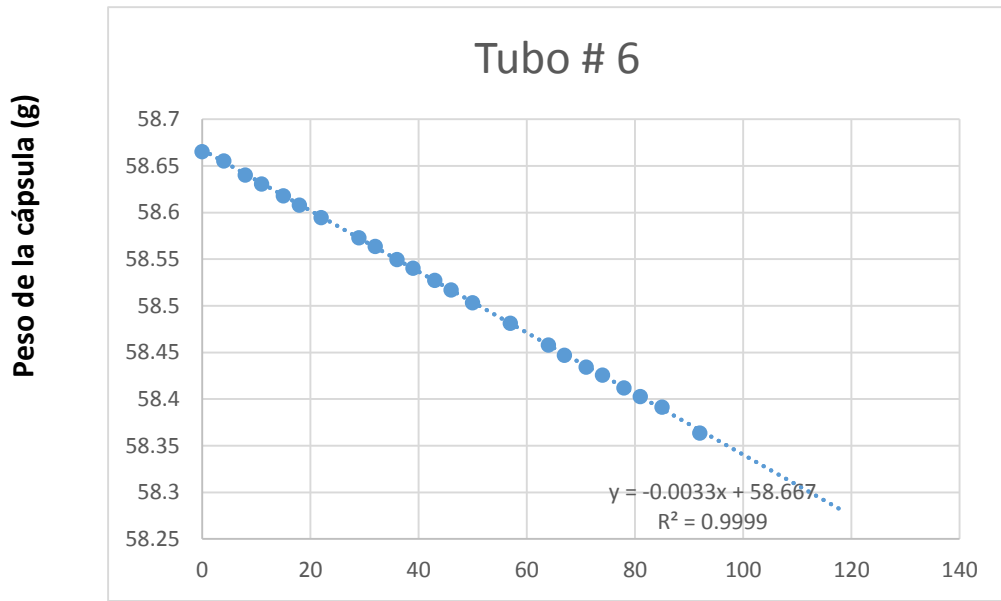
Anexo 7: Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 8.



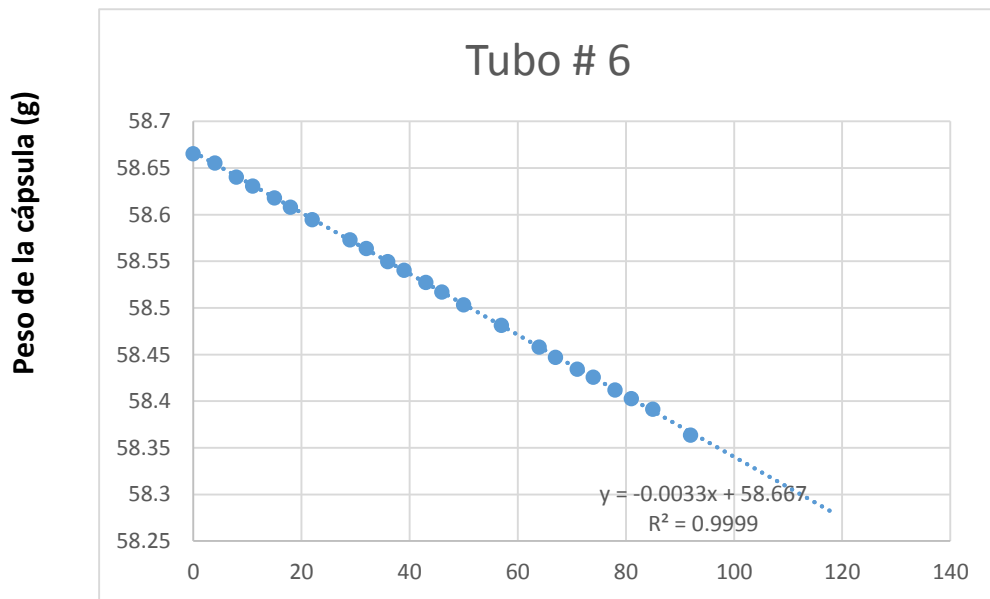
Anexo 8: Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 26.



Anexo 9. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N° 6.



Anexo 10. Regresión masa vs. tiempo de la cápsula de permeación N°10.



Anexo 11: Calculo del porcentaje de digestibilidad de la materia seca y orgánica por animal según la ración consumida periodo1:

CALCULO DE LA DIGESTIBILIDAD DE LA MS y MO (%)											
Ración	ovinos	Materia Seca (%)	Consumo Promedio. (kg MS)	DMS %	DMO %	PROMEDIO DMS %	s.d.	cv %	PROMEDIO DMO %	s.d.	cv %
Ración 1	2	88,44	1,19	72,7	71,4	73,3	1,49	2,03	72,7	3,00	4,12
	5	88,44	1,32	71,8	70,1						
	7	88,44	1,38	73,3	72,2						
	8	88,44	1,39	75,3	77,0						
Ración 2	1	88,66	1,09	68,2	73,7	67,9	3,26	4,81	73,1	2,97	4,07
	3	88,66	0,92	64,2	69,9						
	4	88,66	1,09	67,1	71,7						
	6	88,66	1,38	72,0	76,9						

Anexo 12: Calculo del porcentaje de digestibilidad de la materia seca y orgánica por animal según la ración consumida periodo 2:

CALCULO DE LA DIGESTIBILIDAD DE LA MS y MO (%)											
Ración	ovinos	Materia Seca (%)	Consumo Promedio (kg MS)	DMS %	DMO %	PROMEDIO DMS %	s.d.	cv %	PROMEDIO DMO %	s.d.	cv %
Ración 1	1	95,49	1,56	79,3	76,7	78,9	0,72	0,91	78,6	1,62	2,06
	3	95,49	1,31	77,9	78,2						
	4	95,49	1,47	78,8	78,9						
	6	95,49	1,79	79,5	80,5						
Ración 2	2	95,51	1,46	74,6	79,0	72,1	3,00	4,16	79,4	3,16	3,98
	5	95,51	1,23	68,7	76,7						
	7	95,51	1,65	70,5	78,1						
	8	95,51	1,30	74,7	84,0						

Anexo13: Calculo del porcentaje de digestibilidad de la materia seca y orgánica por animal según la ración consumida periodo 3:

CALCULO DE LA DIGESTIBILIDAD DE LA MS y MO (%)											
Ración	ovinos	Materia Seca (%)	Consumo Promedio. (kg MS)	DMS %	DMO %	PROMEDIO DMS %	s.d.	cv %	PROMEDIO DMO %	s.d.	cv %
Ración 1	2	96,45	1,47	77,1	65,7	77,1	1,29	1,67	71,0	5,20	7,33
	5	96,45	1,35	76,2	68,0						
	7	96,45	1,72	79,0	77,4						
	8	96,45	1,66	76,2	72,9						
Ración 2	1	96,59	1,68	70,2	86,4	70,4	1,13	1,60	79,5	5,48	6,89
	3	96,59	1,53	68,9	74,6						
	4	96,59	1,43	70,9	75,6						
	6	96,59	2,21	71,5	81,4						

Anexo14: Calculo del porcentaje de digestibilidad de la materia seca y orgánica por animal según la ración consumida periodo 4:

CALCULO DE LA DIGESTIBILIDAD DE LA MS y MO (%)											
Ración	ovinos	Materia Seca (%)	Consumo Promedio (kg MS)	DMS %	DMO %	PROMEDIO DMS %	s.d.	cv %	PROMEDIO DMO %	s.d.	cv %
Ración 1	1	95,49	2,09	76,8	65,7	78,4	1,74	2,22	71,0	5,20	7,33
	3	95,49	1,38	80,4	68,0						
	4	95,49	1,22	79,2	77,4						
	6	95,49	1,98	77,1	72,9						
Ración 2	2	95,51	1,72	70,7	86,4	71,1	1,83	2,58	79,5	5,48	6,89
	5	95,51	1,76	73,4	74,6						
	7	95,51	1,68	71,2	75,6						
	8	95,51	1,60	69,0	81,4						

Anexo 15: Composición nutricional de las dos raciones totalmente mezcladas en los 4 periodos de alimentación

<i>Composición Nutricional (Base seca)</i>	1 período		2 período		3 período		4 período	
	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
Cz %	7.28 ^a	7.96 ^a	6.52 ^a	8.8 ^b	5.93 ^a	9.15 ^b	6.75 ^a	6.78 ^a
MO %	81.16 ^a	80, 7 ^a	88.97 ^a	86.71 ^a	90.52 ^a	87.44 ^a	88.74 ^a	86.73 ^a

Anexo 16: Porcentaje de digestibilidad de la materia seca consumida de las dos raciones totalmente mezcladas en los 4 periodos de alimentación

<i>Composición Nutricional (Base seca)</i>	1 periodo		2 periodo		3 periodo		4 periodo	
	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
DMS %	73.3 ^a	67.9 ^b	78.9 ^a	72.13 ^b	77.1 ^a	70.4 ^a	78.8 ^a	71.1 ^b

Las letras diferentes significan diferencias significativas entre tratamientos (p<0.05)

DMS: digestibilidad de la materia seca

Anexo17: Promedio de Digestibilidad de materia seca, orgánica y consumo% peso vivo en los cuatro periodos

	Periodo							
	1		2		3		4	
	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
DMS %	73,3	67,9	78,1	74,0	77,1	70,4	78,4	71,1
DMO %	72,7	73,1	78,8	79,1	71,0	79,5	68,4	65,9
Consumo % PV (BS)	3,71	3,07	3,9	3,0	3,28	3,49	3,8	3,2

Anexo 18: Análisis estadístico (ANOVA)

Emisión de metano kg pv glm

Procedimiento GLM

Información de nivel de clase

Clase	Niveles	Valores
Dieta	2	T1 T2
Periodo	4	1p 2p 3p 4p
A	8	1 2 3 4 5 6 7 8
dia	5	1 2 3 4 5

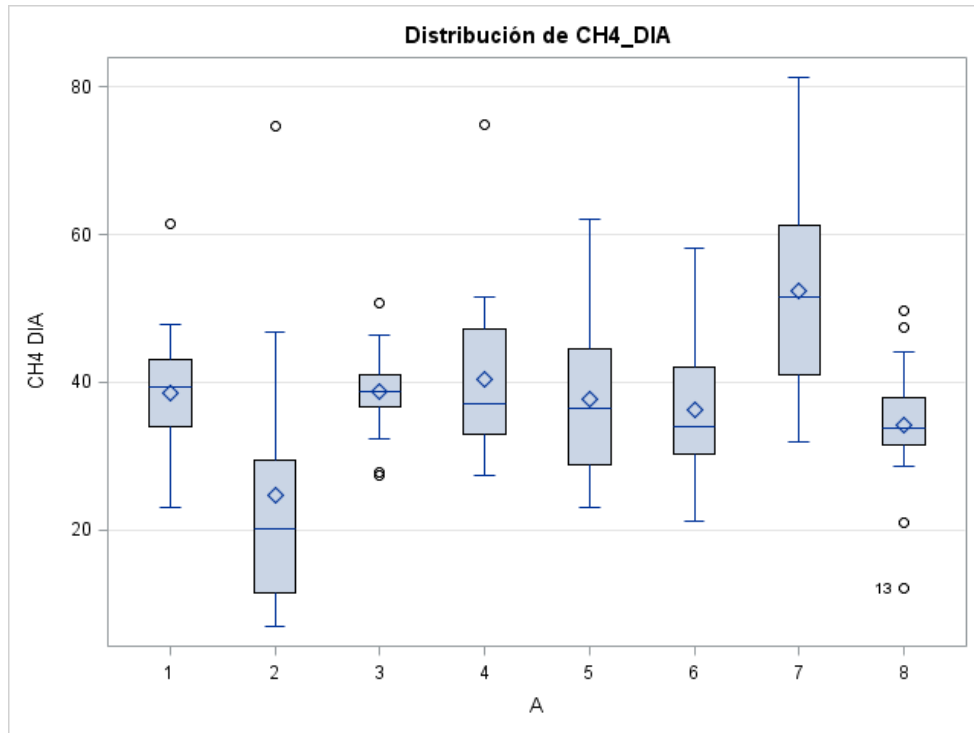
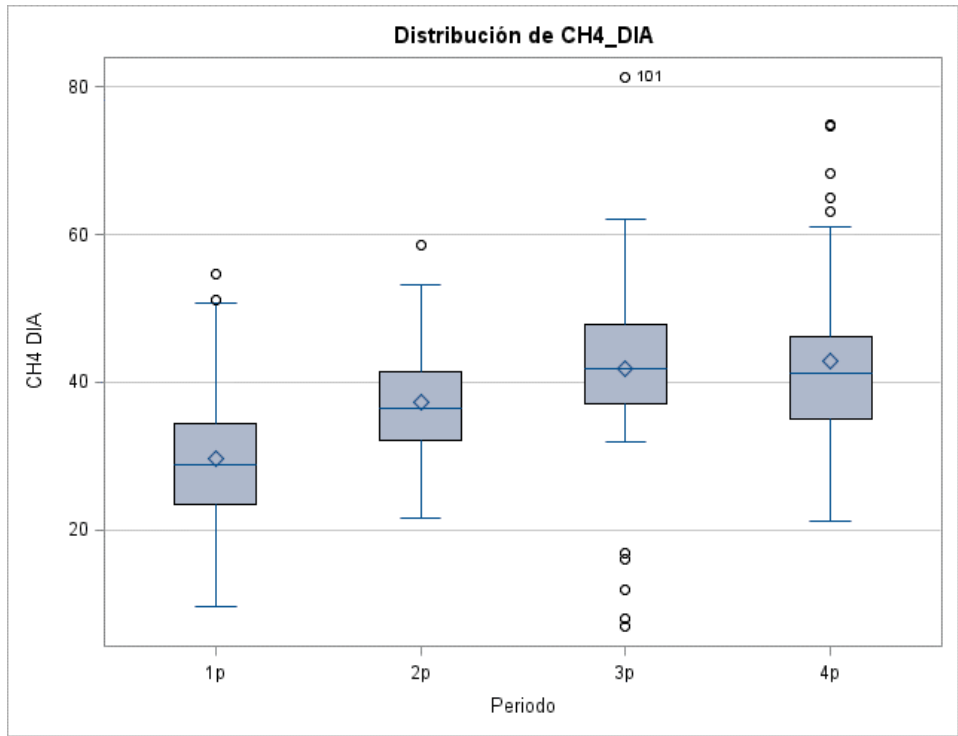
Número de observaciones leídas 160

Número de observaciones usadas 160

R-cuadrado Coef Var Raíz MSE CH4_DIA Media

0.484968 25.24839 9.564729 37.88252

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Dieta	1	250.795102	250.795102	2.74	0.0999
Periodo	3	4316.103688	1438.701229	15.73	<.0001
A	7	8182.370252	1168.910036	12.78	<.0001





**Medias con la misma letra
no son significativamente
diferentes.**

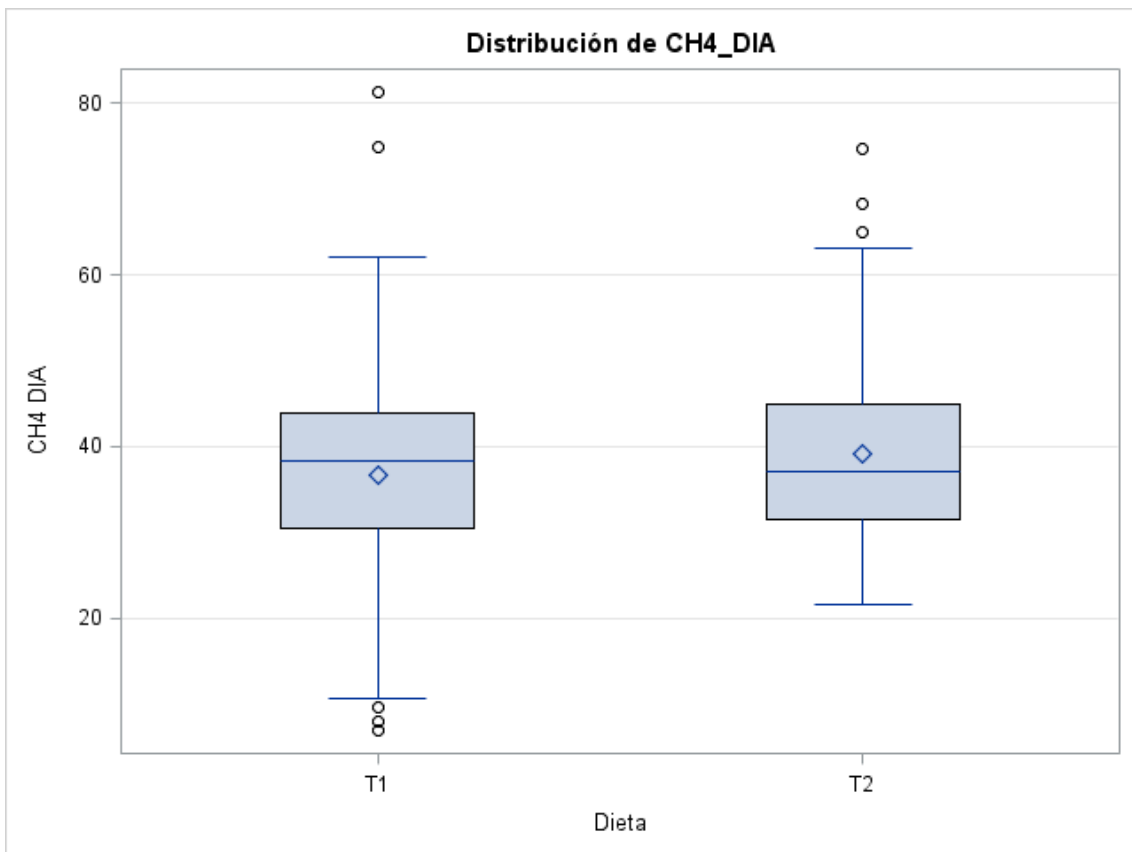
Duncan Agrupamiento	Media	N	A
A	52.435	20	7
B	40.437	20	4
B			
B	38.652	20	3
B			
B	38.633	20	1
B			
B	37.669	20	5
B			
B	36.243	20	6
B			
B	34.306	20	8
C	24.686	20	2



Prueba del rango múltiple de Duncan para CH4_DIA

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Duncan Agrupamiento	Media	N	Periodo
A	42.862	40	4p
A			
A	41.775	40	3p
B	37.229	40	2p
C	29.665	40	1p



Duncan Agrupamiento Media N Dieta

A	39.135	80	T2
A			
A	36.631	80	T1

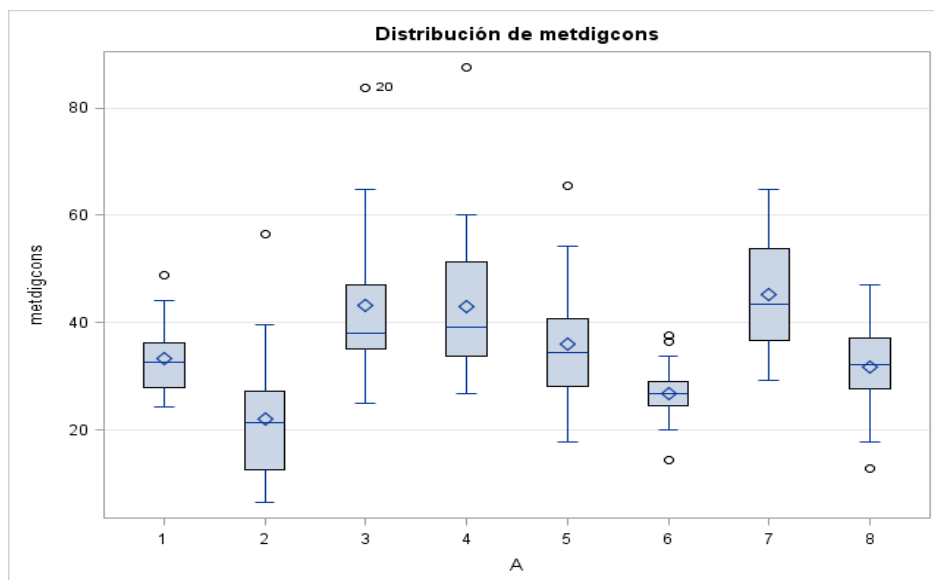
EMISIÓN DE METANO /ALIMENTO DIGERIDO

R-cuadrado Coef Var Raíz MSE metdigcons Media

0.431206	28.96016	10.17755	35.14327
----------	----------	----------	----------

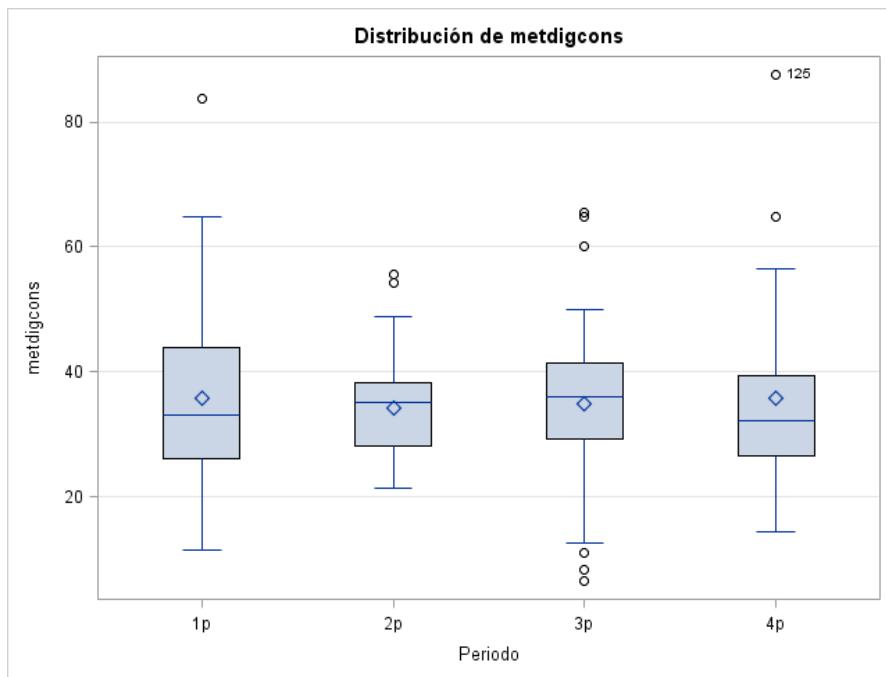
Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Dieta	1	1821.031964	1821.031964	17.58	<.0001
Periodo	3	68.289558	22.763186	0.22	0.8826
A	7	9732.605621	1390.372232	13.42	<.0001

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Dieta	1	1821.031964	1821.031964	17.58	<.0001
Periodo	3	68.289558	22.763186	0.22	0.8826
A	7	9732.605621	1390.372232	13.42	<.0001



**Medias con la misma letra
no son significativamente
diferentes.**

	Duncan Agrupamiento	Media	N	A
	A	45.148	20	7
	A			
	A	43.179	20	3
	A			
	A	43.061	20	4
	B	35.965	20	5
	B			
C	B	33.300	20	1
C	B			
C	B	31.801	20	8
C				
C	D	26.677	20	6
	D			
	D	22.015	20	2



Prueba del rango múltiple de Duncan para metdigcons

**Medias con la misma letra
no son significativamente
diferentes.**

Duncan Agrupamiento Media N Periodo

A 35.795 40 1p

A

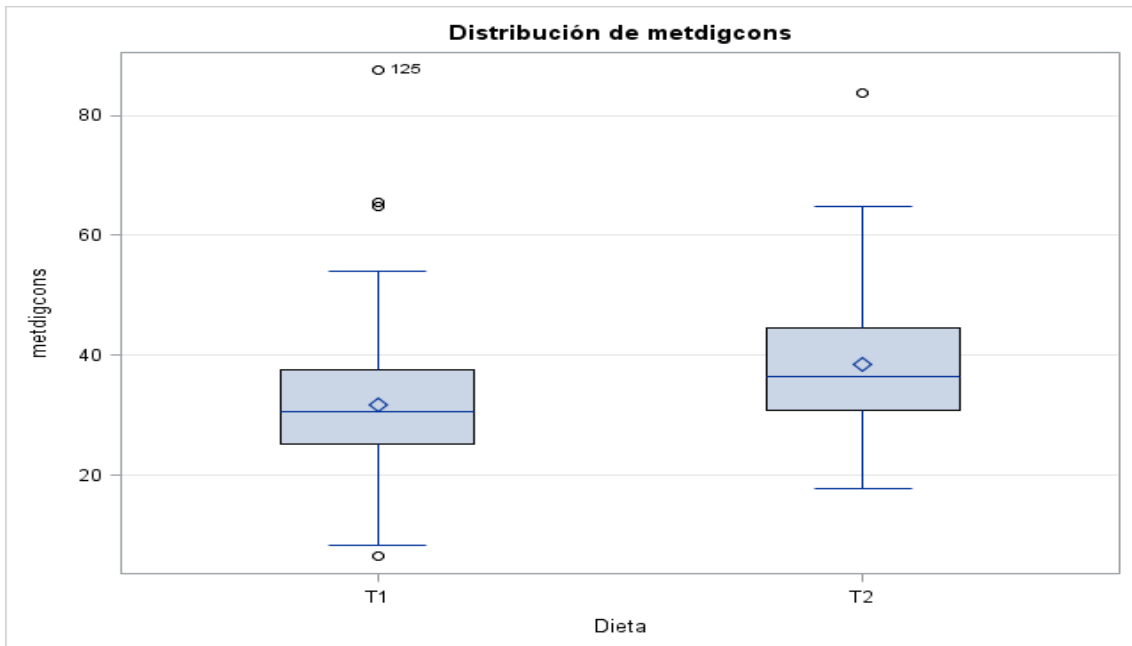
A 35.657 40 4p

A

A 34.972 40 3p

A

A 34.149 40 2p



Duncan Agrupamiento Media N Dieta

A 38.517 80 T2

B 31.770 80 T1

emisión de metano kg pv glm

Procedimiento GLM

Información de nivel de clase

Clase Niveles Valores

Dieta 2 T1 T2

Periodo 4 1p 2p 3p 4p

A 8 1 2 3 4 5 6 7 8

dia 5 1 2 3 4 5

Número de observaciones leídas 161

Número de observaciones usadas 160

emisión de metano kg pv glm

Procedimiento GLM

Variable dependiente: metkg metkg

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	11	5458.18240	496.19840	8.86	<.0001
Error	148	8288.96513	56.00652		
Total corregido	159	13747.14752			

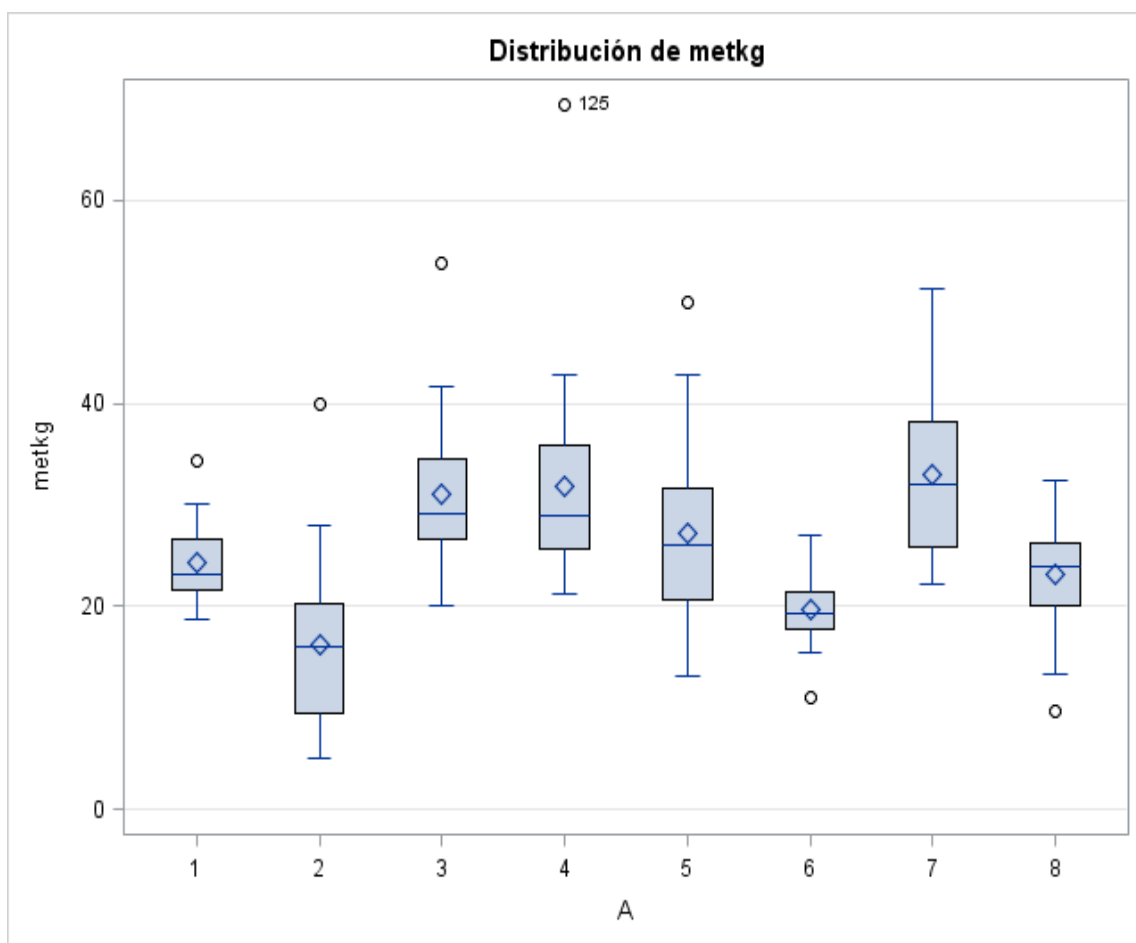
R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	metkg	Media
0.397041	29.03143	7.483750	25.77810	

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Dieta	1	277.315689	277.315689	4.95	0.0276
Periodo	3	59.160914	19.720305	0.35	0.7877
A	7	5121.705795	731.672256	13.06	<.0001

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Dieta	1	277.315689	277.315689	4.95	0.0276
Periodo	3	59.160914	19.720305	0.35	0.7877
A	7	5121.705795	731.672256	13.06	<.0001

Emisión de metano kg pv glm

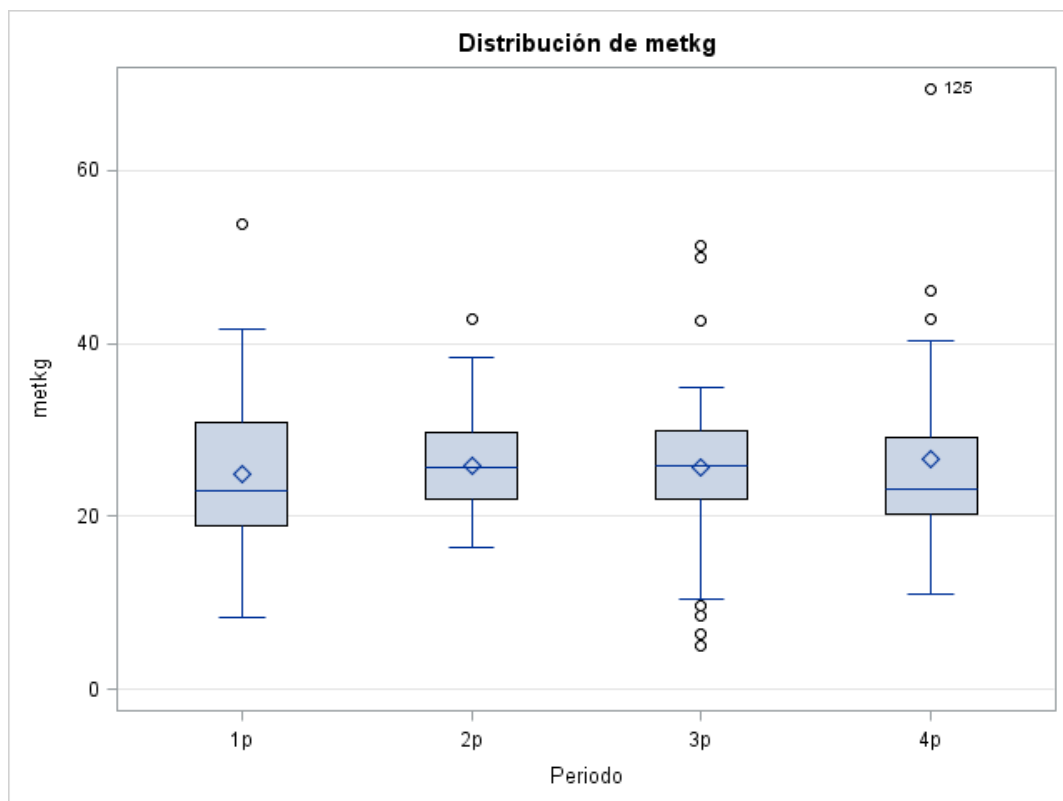
Procedimiento GLM



**Medias con la misma letra
no son significativamente
diferentes.**

Duncan Agrupamiento	Media	N	A
A	32.967	20	7
A			
B	31.876	20	4
B			
B	30.962	20	3
B			
B	27.156	20	5
C			
D	24.349	20	1
D			
D	23.055	20	8
D			
D	19.632	20	6
E			
E	16.228	20	2

Procedimiento GLM



**Medias con la misma letra
no son significativamente
diferentes.**

Duncan Agrupamiento	Media	N	Periodo
A	26.607	40	4p
A			
A	25.891	40	2p
A			
A	25.718	40	3p
A			

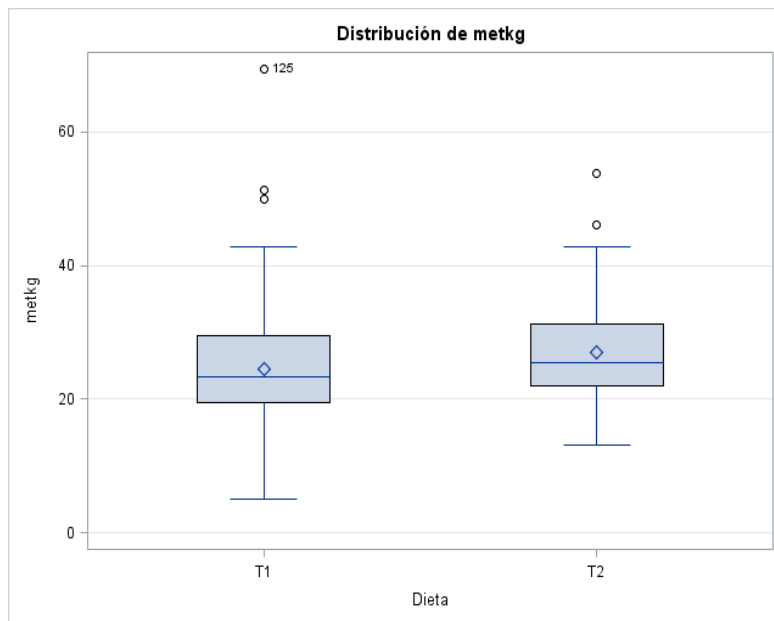
**Medias con la misma letra
no son significativamente
diferentes.**

Duncan Agrupamiento Media N Periodo

A 24.897 40 1p

emision de metano kg pv glm

Procedimiento GLM



**Medias con la misma letra
no son significativamente
diferentes.**

Duncan Agrupamiento Media N Dieta

A 27.095 80 T2

B 24.462 80 T1