

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO  
DOCTORADO EN NUTRICIÓN**



**“EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO POR TORETES AL  
PASTOREO EN CONDICIONES DE SELVA ALTA DEL PERÚ”**

**Presentada por:  
MEDARDO ANTONIO DÍAZ CÉSPEDES**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR  
*DOCTORIS PHILOSOPHIAE* EN NUTRICIÓN**

**Lima– Perú  
2020**

## DEDICATORIA

*Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.*

*A mis padres Manuel y Marina (QEPD) quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre*

*A mi madre Marina y hermano Martín, que en paz descansan (QEPD) a pesar de nuestras distancias físicas, siento que están conmigo siempre y aunque nos faltaron muchas cosas por vivir juntos, sé que este momento hubiera sido tan especial para Uds. como lo es para mí*

*A mi esposa Luz Milagros y mis hijas Flavia Sofía y Micaela Luana, por ser los pilares más importantes y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al divino creador Dios, quien guía cada paso, día a día en el sendero de mi vida.

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

Al Laboratorio de Nutrición Animal y Pastos de la Facultad de Zootecnia y al Centro de Investigación y Producción Tulumayo anexos La Divisoria - Puerto Súngaro (CIPTALDS) de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Al proyecto FONTAGRO por el financiamiento en gran parte para la puesta en marcha del presente estudio.

A mis hermanos con mucho cariño, que han sido el apoyo fundamental para lograr los objetivos propuestos quienes, siempre me dieron esperanzas y tuvieron fe en mí. En especial a Marita, al compartir su hogar conmigo cuando necesité un lugar para quedarme

A todos mis amigos y compañeros de estudio que contribuyeron para lograr esta meta.

## ÍNDICE GENERAL

|       |   |    |
|-------|---|----|
| I.    | INTRODUCCIÓN.....   | 1  |
| II.   | REVISIÓN DE LITERATURA .....  | 4  |
| 2.1   | EL CALENTAMIENTO GLOBAL Y LAS EMISIONES DE GASES DE EFECTO INVERNADERO .....  | 4  |
| 2.2   | EMISIONES DE GASES DE EFECTO INVERNADERO EN EL PERÚ POR EL SECTOR AGROPECUARIO .....  | 6  |
| 2.3   | EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO POR RUMIANTES .....  | 8  |
| 2.4   | EFFECTO DEL CONSUMO, COMPOSICIÓN QUÍMICA Y DIGESTIBILIDAD DEL ALIMENTO SOBRE LA EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO POR LOS RUMIANTES..... | 13 |
| 2.5   | METODOLOGÍAS PARA MEDIR LAS EMISIONES DE METANO ENTÉRICO DE LOS RUMIANTES .....   | 21 |
| 2.5.1 | Métodos indirectos.....   | 22 |
| 2.5.2 | Métodos directos.....   | 24 |
| III.  | MATERIALES Y MÉTODOS .....  | 32 |
| 3.1   | LOCALIZACIÓN DEL ESTUDIO .....  | 32 |
| 3.2   | ANIMALES Y ALIMENTACIÓN.....  | 33 |
| 3.3   | PASTURAS.....   | 33 |
| 3.4   | EVALUACIONES EN LA PASTURA .....  | 34 |
| 3.4.1 | Biomasa total disponible, composición botánica y partes de la planta.....   | 35 |
| 3.4.2 | Calidad nutritiva pastura seleccionada.....   | 36 |
| 3.5   | DETERMINACIÓN DE LA EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO UTILIZANDO LA TÉCNICA DEL TRAZADOR HEXAFLUORURO DE AZUFRE .....                    | 38 |
| 3.5.1 | Acondicionamiento de la técnica y materiales al lugar del estudio .....   | 38 |
| 3.5.2 | Toma de muestra y análisis de gases .....   | 44 |
| 3.5.3 | Emisión de metano entéricos y formas de expresión.....  | 46 |

|  |     |
|--|-----|
| 3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....   | 50  |
| 3.6.1 Prueba t- Student para muestras pareadas.....  | 50  |
| 3.6.2 Prueba no paramétrica de Wilcoxon (para observaciones pareadas).....                       | 51  |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....  | 52  |
| 4.1 EVALUACIONES EN LA PASTURA .....   | 52  |
| 4.1.1 Biomasa total disponible, composición botánica y partes de la planta.....                  | 52  |
| 4.1.2 Calidad nutritiva pastura seleccionada.....  | 55  |
| 4.2 EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO UTILIZANDO LA TÉCNICA DEL<br>TRAZADOR HEXAFLUORURO DE AZUFRE..... | 59  |
| 4.2.1 Emisión de metano entérico e intensidad de emisión .....                                   | 60  |
| 4.2.2 Emisión de metano por unidad de consumo y rendimiento de metano<br>entérico.....           | 68  |
| V. CONCLUSIONES.....   | 76  |
| VI. RECOMENDACIONES .....  | 77  |
| VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....  | 78  |
| VIII. ANEXOS .....   | 103 |

## ÍNDICE DE CUADROS

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| Cuadro 1: | Métodos de estimación directa de la emisión de metano de los rumiantes   | 28 |
| Cuadro 2: | Características meteorológicas promedio durante los dos periodos experimentales .....  | 32 |
| Cuadro 3: | Atributos, composición botánica, relación material verde/senescente, fracciones del forraje, relación hoja /tallo de la pastura seleccionada durante los dos periodos de estudio ..... | 53 |
| Cuadro 4: | Composición química, energía bruta, digestibilidad y producción de gases de la pastura seleccionada durante los dos periodos del estudio .....   | 56 |
| Cuadro 5: | Efecto del periodo de precipitación pluvial sobre la emisión de metano entérico e intensidad de emisión generadas por toretes al pastoreo .....  | 61 |
| Cuadro 6: | Efecto del periodo precipitación pluvial sobre el consumo de forraje, emisión de metano entérico por unidad de consumo y rendimiento de metano por toretes al pastoreo .....           | 69 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|            |  |    |
|------------|--|----|
| Figura 1:  | Metabolismo de carbohidratos en el rumen y metanogénesis.....  | 10 |
| Figura 2:  | Vía de metanogénesis a partir de sustratos de CO <sub>2</sub> y H <sub>2</sub> .....   | 11 |
| Figura 3:  | Técnica <i>in vitro</i> de producción de gases y emisión de metano entérico de Hohenheim (Hohenheim Gas Test) .....  | 23 |
| Figura 4:  | Método del gas trazador hexafluoruro de azufre.....  | 25 |
| Figura 5:  | Regresión del peso de la capsula cargada con SF <sub>6</sub> versus los días de calibración para determinar la tasa de liberación (TL; SF <sub>6</sub> mg/día) de las capsulas .....                                 | 39 |
| Figura 6:  | Componentes de la línea de colección de muestras de gases .....  | 40 |
| Figura 7:  | Calibración de Líneas de flujo .....   | 41 |
| Figura 8:  | Componentes del cánisters para colección de muestras de gases .....  | 42 |
| Figura 9:  | Calibración del cánisters para colección de muestras de gases .....  | 43 |
| Figura 10: | Adaptación de los animales experimentales .....  | 43 |
| Figura 11: | Emisión de metano entérico determinados mediante el software LifeSim, directriz del IPCC (2006) y técnica del trazador SF <sub>6</sub> generados por toretes al pastoreo en condiciones de selva alta del Perú ..... | 65 |

## ÍNDICE DE ANEXOS

|           |  |     |
|-----------|--|-----|
| ANEXO 1:  | Características meteorológicas promedio mensual durante el año de ejecución del estudio 2017 .....   | 105 |
| ANEXO 2:  | Características de los animales para ambos periodos de estudio.....  | 105 |
| ANEXO 3:  | Composición botánica de la pastura seleccionada durante el periodo de mayor y menor pluvial .....  | 106 |
| ANEXO 4:  | Cálculos de carga animal instantánea, carga animal y capacidad de carga de la pastura en ambos periodos de estudio .....   | 107 |
| ANEXO 5:  | Análisis químico proximal y energía bruta de la pastura seleccionada durante el periodo de mayor y menor precipitación pluvial .....   | 108 |
| ANEXO 6:  | Medio para digestibilidad <i>in vitro</i> mediante el método Daisy II Ankom® Incubator .....   | 109 |
| ANEXO 7:  | Digestibilidad <i>in vitro</i> mediante el método Daisy II Ankom® Incubator expresado en base seca de la pastura seleccionada en los dos periodos de evaluación .....  | 109 |
| ANEXO 8:  | Medio para Hohenheim Gas Test - Universidad de Hohenheim .....   | 110 |
| ANEXO 9:  | Análisis químico proximal y energía bruta expresados en base seca de las heces de los toretes al pastoreo dosificados con el marcador óxido crómico (Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ) y dióxido de titanio (TiO <sub>2</sub> ) durante el periodo de mayor precipitación pluvial ..... | 111 |
| ANEXO 10: | Análisis químico proximal y energía bruta expresados en base seca de las heces de los toretes al pastoreo dosificados con el marcador óxido crómico (Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ) y dióxido de titanio (TiO <sub>2</sub> ) durante el periodo de menor precipitación pluvial ..... | 112 |
| ANEXO 11: | Concentraciones de óxido crómico y dióxido de titanio en las heces, excreción fecal de la materia orgánica, materia seca, digestibilidad de la materia orgánica y consumo del forraje de toretes al pastoreo durante el periodo de mayor precipitación pluvial .....                   | 113 |
| ANEXO 12: | Concentraciones de óxido crómico y dióxido de titanio en las heces, excreción fecal de la materia orgánica, materia seca, digestibilidad de la materia orgánica y consumo del forraje de toretes al pastoreo durante el periodo de menor precipitación pluvial .....                   | 114 |



|           |   |     |
|-----------|---|-----|
| ANEXO 13: | Consumo de nutrientes y energía de los toretes al pastoreo dosificados con el marcador óxido crómico ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) y dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) durante el periodo de mayor y menor precipitación pluvial.....   | 115 |
| ANEXO 14: | Emisión de metano <i>in vitro</i> de la pastura seleccionada evaluadas a 24 horas de incubación mediante el Hohenheim Gas Test durante ambos periodos de estudio.....   | 116 |
| ANEXO 15: | Tasas de permeación de las capsulas cargadas con hexafluoruro de azufre para ambos periodos de estudio .....  | 117 |
| ANEXO 16: | Calibración y cálculo del flujo de las líneas capilares para el periodo de mayor precipitación pluvial .....  | 118 |
| ANEXO 17: | Calibración y cálculo de flujo de las líneas capilares para el periodo de menor precipitación pluvial .....   | 119 |
| ANEXO 18: | Calibración de cánisters para el periodo de mayor precipitación pluvial   | 120 |
| ANEXO 19: | Calibración de cánisters para el periodo de menor precipitación pluvial<br>Emisión de metano por toretes al pastoreo mediante la técnica del hexafluoruro de azufre ( $\text{SF}_6$ ) en condiciones de selva alta durante ambos periodos de estudio .....  | 121 |
| ANEXO 20: | Metano entérico estimado mediante la técnica $\text{SF}_6$ expresada como emisión absoluta diaria y por unidad de consumo pastoreo de toretes de carne durante el periodo de mayor precipitación pluvial .....  | 122 |
| ANEXO 21: | Emisiones de metano entérico a Nivel 2 de acuerdo con las directrices del IPCC (2006) .....   | 123 |
| ANEXO 22: | Metano entérico estimado mediante las directrices del IPCC (2006) expresada como emisión absoluta diaria de toretes de carne durante ambos periodos de estudio .....  | 124 |
| ANEXO 23: | Procedimiento para estimar la emisión de $\text{CH}_4$ con el software LifeSim  | 125 |
| ANEXO 24: | Emisión de metano por toretes al pastoreo mediante la técnica de simulación Life-Sim en condiciones de selva alta durante ambos periodos de estudio.....  | 126 |
| ANEXO 25: | Evaluación del supuesto de normalidad utilizando la prueba Shapiro-Wilks (modificado) para las variables composición botánica, composición química, digestibilidad <i>in vitro</i> , y variables relacionadas con el consumo emisión de metano <i>in vitro</i> , simulación Life-Sim y $\text{SF}_6$ de la pastura seleccionada durante los dos ambos periodos de estudio . | 128 |

|           |  |     |
|-----------|--|-----|
| ANEXO 26: | Evaluación del supuesto de homocedasticidad mediante la Prueba F para igualdad de varianzas para las variables composición botánica, composición química, digestibilidad <i>in vitro</i> , variables relacionadas con el consumo, emisión de metano <i>in vitro</i> , simulación Life-Sim y SF <sub>6</sub> de la pastura seleccionada durante los dos ambos periodos de estudio ..... | 129 |
| ANEXO 27: | Prueba T student para muestras pareadas para las variables composición botánica, composición química, digestibilidad <i>in vitro</i> , y variables relacionadas con el consumo durante ambos periodos de estudio .....   | 130 |
| ANEXO 28: | Prueba de Wilcoxon (muestras apareadas) que no cumplieron con los supuestos de normalidad y homocedasticidad los dos ambos periodos de estudio .....   | 131 |
| ANEXO 29: | Prueba de Wilcoxon (muestras apareadas) que no cumplieron con los supuestos de normalidad y homocedasticidad los dos periodos de estudio.....  | 132 |

## RESUMEN

El objetivo fue determinar las emisiones de metano ( $\text{CH}_4$ ) entérico generadas por toretes al pastoreo en condiciones de selva alta del Perú durante el periodo de mayor y menor precipitación pluvial. Se utilizó catorce toretes Brahman con peso vivo inicial de  $279.9 \pm 17.9$  kg que pastaban una mezcla de pastos tropicales con mayor proporción del “Pasto alemán” *Echinochloa polystachya* (Kunth) Hitch. y en menor proporción de pasto natural “Torourco” *Paspalum conjugatum* (P.J. Bergius) Roxb. y la leguminosa “Kudzú” *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth.. La técnica del trazador hexafluoruro de azufre ( $\text{SF}_6$ ) fue utilizada para medir las emisiones de  $\text{CH}_4$ . La excreción fecal se midió usando los marcadores externos dióxido de titanio y óxido crómico, la digestibilidad de la materia orgánica se estimó a partir de la concentración de proteína cruda fecal y ambos parámetros se usaron para calcular la ingesta diaria de alimento. Las emisiones de  $\text{CH}_4$  en el periodo de menor precipitación pluvial ( $296.7 \pm 8.9$  g  $\text{CH}_4$ /torete y día) fueron mayores ( $P < 0.0001$ ) que durante el periodo de mayor precipitación pluvial ( $176.5 \pm 10.9$  g  $\text{CH}_4$ /torete y día). La intensidad de las emisiones en los dos periodos fueron similares ( $354.7 \pm 85.2$  vs.  $489.4 \pm 120.6$  g  $\text{CH}_4$ / kg de ganancia diaria promedio). Las emisiones de  $\text{CH}_4$  por unidad de ingesta de materia seca (IMS), materia orgánica (MOI) y fibra detergente neutra (FDNI) fueron menores ( $P < 0.0001$ ) en el periodo de mayor precipitación pluvial ( $20.3 \pm 0.8$  g / kg MSI,  $27.0 \pm 1.1$  g/kg MOI,  $29.7 \pm 1.2$  g/kg FDNI) que en el periodo de menor precipitación pluvial ( $31.1 \pm 1.3$  g / kg MSI,  $40.9 \pm 1.7$  g/kg MOI,  $44.5 \pm 1.9$  g/kg FDNI). El valor del factor de conversión de energía bruta en  $\text{CH}_4$  ( $Y_m$ ) en el periodo de menor precipitación pluvial ( $10.6 \pm 0.4$  %) fue mayor ( $P < 0.0001$ ) que en el periodo de mayor precipitación ( $7.1 \pm 0.3$  %). Los valores de  $Y_m$  en ambos periodos estaban por encima del 6.5% sugerido por el Panel Intergubernamental sobre Cambio Climático (IPCC) para el pastoreo de ganado y el 6.0% utilizado por Perú para sus inventarios de gases de efecto invernadero.

**Palabras clave:** emisiones de metano, técnica del trazador de  $\text{SF}_6$ , toretes, ganancia diaria promedio, pasturas tropicales.

## ABSTRACT

The aim was to determine the enteric methane (CH<sub>4</sub>) emissions from steers grazing tropical pastures in Peruvian rainforest region during the period of higher and lower rainfall. Fourteen Brahman steers with initial BW  $279.9 \pm 17.9$  kg were used to graze a mixture of tropical pasture, with a greater proportion of “German grass” *Echinochloa polystachya* (Kunth) Hitch. and a lesser extent of natural grass “Torourco” *Paspalum conjugatum* (P.J. Bergius) Roxb. and legume, like “Kudzú” *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth.. The sulphur hexafluoride (SF<sub>6</sub>) tracer technique was used to measure CH<sub>4</sub> emissions. Faecal excretion was measured using the external markers of titanium dioxide and chromic oxide, organic matter digestibility was estimated from faecal crude protein concentration and both parameters were used to calculate the daily feed intake. CH<sub>4</sub> emission in the period of low rainfall ( $296.7 \pm 10.9$  g CH<sub>4</sub>/ steer and day) was higher ( $P < 0.0001$ ) than in the period of higher rainfall ( $176.5 \pm 8.9$  g CH<sub>4</sub>/ steer and day). The intensity of the emissions the two periods were similar ( $354.7 \pm 85.2$  vs.  $489.4 \pm 120.6$  g CH<sub>4</sub>/kg average daily gain). CH<sub>4</sub> emissions per unit of dry matter intake (DMI), organic matter (OMI) and neutral detergent fiber (NDFI) were lower ( $P < 0.0001$ ) in the period of higher rainfall ( $20.3 \pm 0.8$  g / kg DMI,  $27.0 \pm 1.1$  g / kg OMI,  $29.7 \pm 1.2$  g / kg NDFI) than in the period of low rainfall ( $31.1 \pm 1.3$  g / kg DMI,  $40.9 \pm 1.7$  g / kg OMI,  $44.5 \pm 1.9$  g / kg NDFI). The gross energy conversion factor in CH<sub>4</sub> value, methane yield (Y<sub>m</sub>) in the low rainfall period ( $10.6 \pm 0.4$  %) was higher ( $P < 0.0001$ ) than in the high rainfall period ( $7.1 \pm 0.3$  %). The Y<sub>m</sub> values in both periods were above the 6.5% suggested by the IPCC for grazing cattle and the 6.0% used by Peruvian government for its greenhouse gas inventories.

**Keywords:** methane emissions, SF<sub>6</sub> tracer technique, steers, average daily gain, tropical pastures

## I. INTRODUCCIÓN

El sector ganadero mundial contribuye con 7,1 gigatoneladas de CO<sub>2</sub>-eq (14,5%) del incremento de las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) antropógenas (Gerber *et al.* 2013), responsables del llamado calentamiento global o efecto invernadero incrementado (MINAM 2009; IPCC 2007). El Panel Intergubernamental sobre Cambio Climático (IPCC) advierte que, si la sociedad mundial continúa emitiendo gases de efecto invernadero al ritmo actual, la temperatura mundial promedio podría aumentar de 2,6 a 4,8 °C para el año 2100 (IPCC 2013; Carabine y Alberto 2014). Los principales GEI que se emiten a causa de las actividades humanas son el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), el óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), el metano (CH<sub>4</sub>), ozono (O<sub>3</sub>) y los hidrocarburos halogenados (Ellis *et al.* 2007; Knapp *et al.* 2014).

El Perú desde 1992 es parte del tratado internacional de la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC), el mismo que fue ratificado el año 1993 (ONU 1992). Así mismo, nuestro país en el 2002, a pesar de estar considerado como un país de bajas emisiones per cápita y totales, de solo 0.3% (171 Gg CO<sub>2</sub>-eq) sobre el total de emisiones mundiales (MINAM 2016), reiteró su compromiso al incorporarse al Protocolo de Kioto y firmar el Acuerdo de París en el 2016, que estipulan que al 2030 las emisiones de GEI se deben reducir en 30%. Es así como en la Tercera Comunicación Nacional del 2012 (MINAM 2016) se reportó a la CMNUCC que las emisiones de GEI en nuestro país se han incrementado desde el año 1994 al 2012 en un 73 por ciento. De igual manera, la fermentación entérica se ha incrementado en 40 % en el mismo período de tiempo, que representa el 41 % del sector agrícola y el 6.3% de las emisiones totales del país.

La región Selva al 2012 según el IV Censo Nacional Agropecuario (CENAGRO) del año 2012 (INEI 2013), contaba con una superficie de uso agropecuario de 12 032 040 hectáreas (31.1% del total nacional) y una población de ganado vacuno de 768 800 cabezas (14.9% del total nacional) con predominio del ganado criollo (64%), seguida de las razas europeas (28%) y las razas cebuínos (8%). El factor de emisión por fermentación entérica para el ganado vacuno no lechero es de 64.38 kg de CH<sub>4</sub>/cabeza/año. (101.4g de CH<sub>4</sub>/cabeza/día), siendo este factor de emisión calculado en base a las directrices del IPCC con el nivel Tier

2 usando variables tales como: densidad de energía promedio de los alimentos (18.45 MJ/kg), y una tasa de conversión de la energía bruta en CH<sub>4</sub> (Y<sub>m</sub>) de 0.06 (MINAM 2016). La cuantificación de emisiones de CH<sub>4</sub> se puede trabajar a tres niveles (Tier 1, Tier 2 y Tier 3) de aproximaciones (IPCC 2007) y diferentes métodos, metodologías y/o herramientas (Morais *et al.* 2015), todos ellos con diferentes condiciones de aplicación. Con detalle y complejidad creciente, los métodos para la medición de las emisiones de metano en rumiantes se han utilizado desde ecuaciones de estimación generales, pasando por ensayos *in vitro*, hasta llegar a ensayos *in vivo*, donde tradicionalmente la más utilizada es la cámara respirométrica, siendo una de sus principales limitaciones que sus resultados no pueden extrapolarse a animales en pastoreo (Westberg *et al.* 1998; Morais *et al.* 2015). Surgiendo como alternativa, la técnica del marcador hexafluoruro de azufre (SF<sub>6</sub>) para determinar las emisiones de metano de los rumiantes bajo condiciones de pastoreo (Westberg *et al.* 1998).

En este contexto, resulta necesario precisar que, en el Perú, la información técnica y científica sobre la dinámica de GEI emitidos por los sistemas ganaderos es escasa, generalmente se apoyan en información de regiones externas que no necesariamente se relacionan con las condiciones particulares de suelo y clima y las prácticas de manejo. En la actualidad, los pocos estudios publicados sobre emisión de metano entérico a nivel Tier 3 y la mayoría son en ganado vacuno lechero y en condiciones altoandinas (Moscoso *et al.* 2017; Alvarado 2018; Medrano 2019). Así mismo, son pocos los reportes de emisiones de metano entérico en ganado vacuno calculadas a nivel Tier 2 utilizando las directrices del (IPCC 1996; IPCC 2007) en ese sentido, Gómez y Fernández (2009) calcularon las emisiones de metano para vacunos de las diferentes cuencas lecheras de costa, mientras que Vélez *et al.* (2014) lo determino en una zona templada del valle costeño del sur peruano. Sin embargo, con relación a la ganadería de la zona de selva, que se basa en una ganadería extensiva y convencional, actualmente no cuenta con información técnica y científica de los parámetros de valoración de emisiones de metano por efecto de la producción de toretes cebuínos al pastoreo. Por lo tanto, resulta necesario plantear si la emisión de metano entérico generadas por toretes al pastoreo son influenciadas por la marcada estacionalidad del ecosistema de selva alta, para lo cual se planteó como objetivos:

- Determinar la emisión de metano entérico generadas por toretes al pastoreo en condiciones de selva alta del Perú.

- Determinar la emisión por animal e intensidad de emisión de metano entérico generadas por toretes al pastoreo durante los periodos de mayor y menor precipitación pluvial en condiciones de selva alta del Perú
  
- Determinar la emisión de metano entérico por unidad de consumo de nutrientes y rendimiento de metano entérico por toretes al pastoreo durante los periodos de mayor y menor precipitación pluvial en condiciones de selva alta del Perú.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 EL CALENTAMIENTO GLOBAL Y LAS EMISIONES DE GASES DE EFECTO INVERNADERO

El calentamiento global o cambio climático, es el resultado del efecto invernadero incrementado (MINAM 2009) y está transformando los ecosistemas de la tierra y amenazando el bienestar de la generación actual y las futuras. Existen gases específicos en la atmosfera llamados GEI como el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), metano (CH<sub>4</sub>), dióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>), ozono (O<sub>3</sub>), el vapor de agua y los hidrocarburos halogenados que permiten el paso de radiaciones solares de onda corta más no las de onda larga. Las ondas cortas que logran atravesar son detenidas su salida, que al ser reflejadas retornan hacia la superficie de la tierra generando y manteniendo el calor dentro de la atmósfera (IPCC 2007; IPCC 2014), por lo que, gracias a éste proceso natural conocido como “Efecto invernadero” que da en cualquier planeta con atmósfera (Martínez y Fenández 2004) la temperatura promedio global es +15°C (Martínez y Fenández 2004; MINAM 2009), de lo contrario, debería ser -18°C (Kessel 2000), es decir, hay una diferencia de 33°C (Le Treut 2007), en virtud de que existe una diferencia entre la radiación solar absorbida y la emitida por la tierra, así como su distancia con respecto al sol terrestre.

Jastrow *et al.* (1991), manifiestan que en los últimos 100 años la temperatura promedio global se ha incrementado en 0.5 °C y se espera que en los próximos 100 años se incremente a 2.5 °C, por lo tanto, para “mantener” el aumento de la temperatura mundial por debajo de 2 °C y evitar cambios climáticos “peligrosos” (acuerdo de Copenhague 2009. COP 15.), se requieren con urgencia recortes sustanciales de las emisiones mundiales. El IPCC advierte que, si la sociedad mundial continúa emitiendo gases de efecto invernadero al ritmo actual, la temperatura mundial promedio podría aumentar de 2,6 a 4,8 °C para el año 2100 (IPCC 2013; Garabine y Alberto 2014). En ese mismo sentido, Forster *et al.* (2007) realizaron modelos de estimación y pronostican que antes de fin de siglo el aumento de temperatura promedio global será de 2 a 6 °C.



Los principales GEIs que se emiten a causa de las actividades antropogénicas son, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y N<sub>2</sub>O, con unas emisiones estimadas en 7,1 gigatoneladas (GT) de dióxido de carbono equivalente (CO<sub>2</sub>-eq) por año, que representan el 14,5% de las emisiones de GEI inducidas por el ser humano, y dentro de ese escenario, el sector ganadero incide de manera importante en el cambio climático (FAO 2013a). Existe una relación directa entre las intensidades de emisión de GEI y la eficacia con que los productores utilizan los recursos naturales. Para los sistemas de producción pecuarios, las emisiones de N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>, los tres principales GEI emitidos por el sector, son pérdidas de nitrógeno (N), energía y materia orgánica que merman la eficacia y productividad (IPCC 2007).

En este contexto, el CH<sub>4</sub> es el segundo mayor contribuyente al calentamiento de la tierra, seguido del dióxido de carbono CO<sub>2</sub>, pasando de 580-730 partes por billón (ppb), volumen/volumen, en tiempos preindustriales (1950) a 1774 ppb, en la actualidad (Lelieveld 1998). Así mismo, a pesar de que el N<sub>2</sub>O tiene un poder de calentamiento 310 veces con relación al CO<sub>2</sub> y el CH<sub>4</sub> tan solo de 25 veces (IPCC 2014), el CH<sub>4</sub> es considerado como el gas clave para reducir las emisiones de GEI del sistema ganadero frente al cambio climático (Knapp *et al.* 2014) debido a que el metano es el gas que más se emite, alrededor del 44% de las emisiones del sector. El porcentaje restante se distribuye en partes casi iguales entre el N<sub>2</sub>O (29%) y el CO<sub>2</sub> (27%), respectivamente. Por lo que, este GEI debe ser tomado muy en cuenta, esto no solo debido a que tiene un poder de calentamiento con relación al CO<sub>2</sub>, sino también porque afecta la eficiencia productiva del animal, ya que si el valor típico de Y<sub>m</sub> de 6,5% reportado por el IPCC (IPCC 2007) del consumo de energía bruta, que se pierde en la generación de metano, se pudiera canalizar para el aumento de peso o la producción de leche, la eficiencia de la producción podría ser mejor (Howden y Reyenga 1999).

El cambio climático son una preocupación de toda la humanidad, existen múltiples eventos que están evidenciando las consecuencias de estos cambios y que se configuran en alarmas para generar conciencia de lo contrario nuestro futuro se verá afectado, dentro de ese escenario el sector ganadero mundial contribuye con una parte importante de las emisiones de GEI antropógenas, en vista de la necesidad cada vez más apremiante de garantizar la seguridad alimentaria y alimentar a una población mundial creciente, más rica y urbanizada (Gerber *et al.* 2013; Forster *et al.* 2007; IPCC 2007). Para disminuir el impacto de este

fenómeno y plantear estrategias de mitigación y adaptación a nivel global, la CMNUCC, del cual el Perú es miembro se comprometieron a reportar y actualizar sus inventarios de GEI que periódicamente permitan generar estrategias de mitigación (IPCC 1996). La Organización Meteorológica Mundial (OMM) y el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) estableció en 1988 IPCC que es el principal organismo internacional encargado de la evaluación del cambio climático y de preparar las metodologías y directrices que orienten a los miembros de la CMNUCC para la elaboración de los inventarios nacionales de emisiones de GEI (FAO 2015).

El IPCC (2007) sugiere tres niveles diferentes de aproximaciones para calcular emisiones denominan Tier 1, Tier 2 y Tier 3. Con detalle y complejidad creciente, donde los niveles superiores mejoran la precisión del inventario y reducen la incertidumbre, pero aumentan la complejidad y recursos requeridos. El nivel 1 o Tier 1, utiliza promedios globales, aunque distinguiendo variables significativas como clima, cantidad de insumos utilizados, tipo de cosecha o de animal, tipo de manejo de suelo y de estiércol, régimen de riego, y otros de nivel similar. Cuando se necesitan datos agronómicos estos se obtienen de bases de datos globales (por ejemplo, de FAO). El nivel 2 o Tier 2 utiliza las ecuaciones y conceptos de Tier 1 pero requiere información local más detallada de cada paso; por ejemplo, peso de los animales, cantidad y tipo de alimento suministrado, digestibilidad, uso local de fertilizantes, etcétera. El nivel 3 o Tier 3 involucra estudios exhaustivos y datos tomados con repetición para obtener factores de emisión locales y de baja incerteza. Los métodos de nivel más alto se recomiendan para los rubros de mayor influencia en un inventario, y en aquellos casos en que se conocen los detalles.

## **2.2 EMISIONES DE GASES DE EFECTO INVERNADERO EN EL PERÚ POR EL SECTOR AGROPECUARIO**

El Perú desde 1992 es parte del tratado internacional de la CMNUCC, el mismo que fue ratificado el año 1993, con el compromiso de contribuir al objetivo de “estabilizar las concentraciones de GEI en la atmósfera a un nivel que prevenga interferencias antropogénicas peligrosas” (ONU 1992). Así mismo, el Perú en el 2002, a pesar de estar considerado como un país de bajas emisiones per cápita y totales, de solo 0.3% (171 Gg CO<sub>2</sub>-eq) sobre el total de emisiones mundiales, reiteró su compromiso al incorporarse al Protocolo de Kioto y al Acuerdo de París en el 2016, que estipulan que al 2030 las emisiones

de GEI se deben reducir en 30% (MINAM 2016). Sin embargo, el Perú califica como un país “particularmente vulnerable”, por presentar siete de las nueve características reconocidas por la CMNUCC de origen antropogénico que causan degradación de ecosistemas y contaminación ambiental. Así como también las diversas amenazas hidrometeorológico (sequías y lluvias excepcionales, inundaciones, heladas, entre otros) (MINAM 2015). Nuestro país en su intento de lograr pasar al nivel 2 (Tier 2) viene usando valores de consumo de energía bruta por defecto por lo cual ha recurrido a un factor de equivalencia llamada Potencial de Calentamiento Global (PCG) para comparar los gases inventariados como lo establecido por el IPCC, este factor permite transformar los gases a unidades equivalentes de CO<sub>2</sub>-eq. Por lo tanto, el PCG del CH<sub>4</sub> utilizado fue de 21 (IPCC 1996). Es así como la Tercera Comunicación Nacional (2012) a la CMNUCC de acuerdo con las directrices del IPCC, reportó que los resultados de GEI emitidos por el sector Agricultura, fueron 26,043.68 GgCO<sub>2</sub>e (15.20% del total nacional), reportándose como una de las mayores fuentes de emisión a la fermentación entérica con un 41 por ciento (10,735 GgCO<sub>2</sub>-eq) de GEI emitido por el sector agricultura y del 6.3% de las emisiones totales (MINAM 2016). Estos reportes, evidencian que las emisiones de GEI en el Perú se han incrementado desde el año 1994 al 2012 en un 73 por ciento. De igual manera, la fermentación entérica se ha incrementado en 40 por ciento en el mismo período de tiempo.

El Perú es un país con grandes extensiones de tierras dedicadas a la actividad agropecuaria, según el último Censo Nacional Agropecuario (CENAGRO) realizado el 2012, se cuentan con 38'742,465 hectáreas dedicadas a esta actividad, es decir ocupa el 30.1% del territorio nacional, predominando el 57.5% en la sierra seguido de la selva con un 31.1% y en menor proporción la zona costera donde representan el 11.5%. Así mismo, la región Selva al 2012, contaba con una superficie de uso agropecuario de 12 032 040 hectáreas (31.1% del total nacional) y una población de ganado vacuno de 768 800 cabezas (14.9% del total nacional) con predominio del ganado criollo (64%), seguida de las razas europeas (28%) y las razas cebuínas (8%) (INEI 2013).

El factor de emisión por fermentación entérica para el ganado vacuno no lechero es de 64.38 kg de CH<sub>4</sub>/cabeza/año. Para determinar este factor de emisión de la fermentación entérica fueron calculados basados en las directrices del IPCC con el nivel Tier 2 y usaron variables tales como: densidad de la energía existente en los alimentos (18.45 Mj/kg), Y<sub>m</sub> (0.06) como tasa de conversión del CH<sub>4</sub> para el ganado vacuno que representa la fracción de energía bruta presente en los alimentos que se convierte en metano (MINAM 2016). Dentro de ese

contexto, la ganadería en la Selva Peruana ha estado cuestionada porque está asociada a la deforestación, baja productividad, altas tasas de degradación de suelos y sobre todo su producción está afectando la sostenibilidad medio ambiental (Arévalo *et al.* 1998). Modernel *et al.* (2014) argumentan que, para mitigar el cambio climático, hay que promover sistemas ganaderos sostenibles que promueva la conservación del suelo y agua, una reducción en emisiones de GEIs y que favorezca la producción agropecuaria (Arévalo *et al.* 1998). En el Perú a la actualidad solo se han realizado tres mediciones directas e individuales de emisiones de CH<sub>4</sub> entérico con vacas lecheras en condiciones de sierra (Moscoso *et al.* 2017; Alvarado 2018; Medrano 2019), siendo los reportes de estos estudios ampliamente superiores a lo reportado por el MINAM de 196 g CH<sub>4</sub>/vaca/d (MINAM 2016). En ese sentido, para las condiciones del ecosistema de selva peruana no se conocen las emisiones de metano de toretes de carne en ningún sistema de pastoreo y/o confinamiento.

En el Perú, la alta emisión de CH<sub>4</sub> proveniente de ganado bajo sistemas al pastoreo es explicado por la pobre calidad del forraje que en muchos casos limita los sistemas de producción debido a las condiciones medioambientales desfavorables y pobre manejo (Arévalo *et al.* 1998), los bajos consumos, así como por la baja eficiencia de utilización de nutrientes para producir carne o leche. En ese sentido se han planteado algunas estrategias que ayudan a mejor utilización de los alimentos y por lo tanto a la reducción de la emisión de CH<sub>4</sub> como son: mejora de la calidad de las pasturas, incremento en uso de carbohidratos de alta fermentabilidad, tratamiento físico de forrajes, tratamiento con urea y minerales a dietas de baja calidad y uso de compuestos modificadores del medio ambiente ruminal.

### **2.3 EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO POR RUMIANTES**

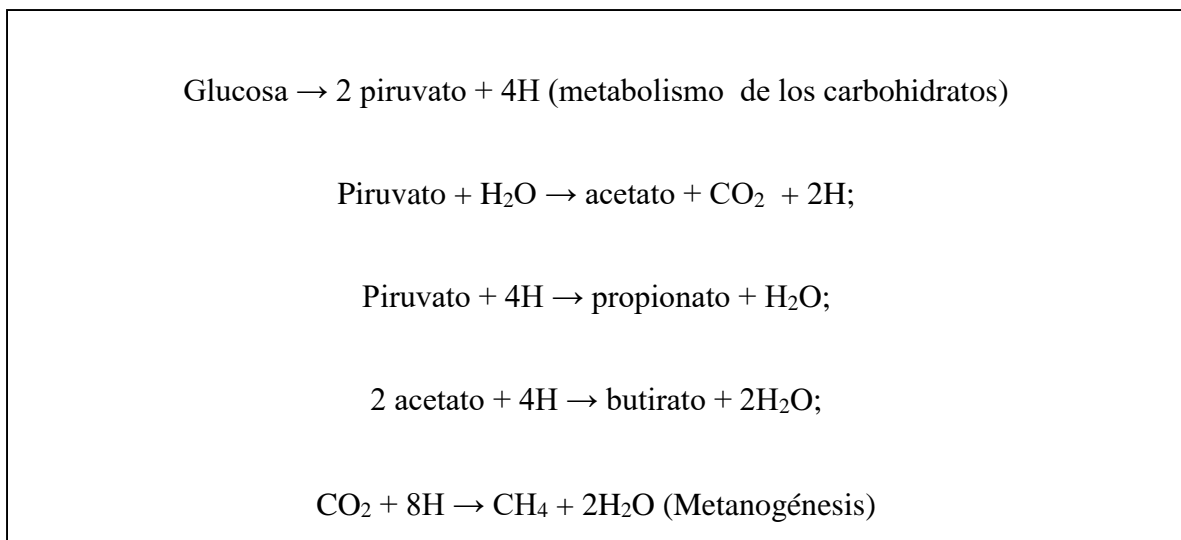
El CH<sub>4</sub> producido por fermentación entérica es el principal GEI que proviene de la ganadería (Lasseby 2007). Knapp *et al.* (2014) manifiestan que de las emisiones globales de CH<sub>4</sub> liberados a la atmósfera por fermentación entérica es responsable del 17 % y de esa cantidad los rumiantes al pastoreo en forrajes de baja calidad emiten el 75% de las emisiones globales (Leng y Kunju 1993). Este fenómeno ocurre porque el animal no puede utilizar el CH<sub>4</sub>, por lo que debe de eliminarlo en mayor proporción por eructos o por exhalación junto con otros gases producidos en el rumen, lo que representa una ineficiencia energética para el ganado, ya que entre el dos al 12 % de la energía bruta ingerida en los alimentos se pierde como CH<sub>4</sub> (Vlaming 2008; López y Newbold 2007; Pinares-Patiño *et al.* 2003; Johnson y Johnson

1995). En tanto, el ganado al pastoreo pierde entre el ocho al 14% de la energía digestible consumida con una pastura de 60 – 80% de digestibilidad (Lassey 2007; Cottle *et al.* 2011). La digestión de los nutrientes el 60-65% tiene lugar en el rumen, alrededor del 30% en el intestino delgado y del cinco al 10% en el intestino grueso (la importancia del intestino grueso aumenta en el caso de raciones poco digestibles, ya que llega más alimento). La mayoría del CH<sub>4</sub> entérico se produce en el rumen (87 a 92%), y un ocho a 13% en el intestino grueso. El 98% del total de CH<sub>4</sub> producido tanto en el rumen como en el intestino grueso se emite por eructos a través de la boca y el restante (2%) se emite a través de las heces. La mayor emisión a través de la boca se debe a que aproximadamente el 89% del CH<sub>4</sub> producido en el ciego y el intestino grueso (intestino posterior) se absorbe en el torrente sanguíneo y se libera por espiración (Blas *et al.* 2008; Martin *et al.* 2008).

Los rumiantes, como otros mamíferos, no secretan enzimas digestivas que digieren carbohidratos estructurales (celulosa y hemicelulosa). Los rumiantes dependen de un conjunto de microorganismos anaeróbicos que habitan el rumen para degradar los carbohidratos estructurales de las plantas, las proteínas y otros polímeros orgánicos en monómeros. Estas macromoléculas, son captadas por los microorganismos y lo convierten en productos como ácidos grasos volátiles (AGV), NH<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>. Los AGV (principalmente acético, propiónico y butírico), a su vez son usados por el animal como su principal fuente de energía necesaria para sus funciones vitales, de la cual el animal accede a una parte del alimento transformado en productos finales. que de otra forma le resultaría indigestible (McDonald *et al.* 1995), mientras que el CO<sub>2</sub> y el H<sub>2</sub> son utilizados por los metanógenos, a través de un proceso conocido como metanogénesis, para formar CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y calor (McDonald *et al.* 1995; IPCC 2006). El CH<sub>4</sub> formado no puede ser utilizado por el animal por lo tanto es emitido a la atmósfera principalmente mediante eructos (82.7%), exhalación (15.9%) y en menor medida a través de flatulencias (1.4%) (Murray *et al.* 1976).

El ecosistema ruminal donde ocurre la degradación de los alimentos es un ambiente anaeróbico que favorece la actividad microbiana (bacterias, protozoos, hongos, y archeas) (Blaxter y Clapperton 1965). Sin embargo, para la formación de metano dentro de ellos se encuentran un grupo de microorganismos llamados metanogénicos (0.3 a 4.0% de la masa microbiana del rumen) conformado por: las Archeobacterias – Archaea (Martin *et al.* 2008; Vlaming 2008), los protozoos (Williams y Coleman 1997; Hegarty 1999) y hongos (Orpin y Joblin 1997). Las Archeobacterias son anaerobias estrictas (Martin *et al.* 2008; Vlaming

2008), y muy sensibles a cambios en el medio ruminal, especialmente pH, siendo su rango óptimo de 6,5 a 7,0 (Blas *et al.* 2008; FAO, 2013b). Entre las Arqueobacterias más destacadas en la formación de CH<sub>4</sub> se encuentran el *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobacterium formicicum* y *Methanomicrobium mobile* (Attwood y McSweeney 2008; Clark *et al.* 2011; Janssen 2010; Moss *et al.* 2000; Vlaming 2008). Este grupo de metanógenos reducen el CO<sub>2</sub> a CH<sub>4</sub> usando protones (H<sup>+</sup>) como fuente de energía (Figura 1), pero también pueden usarse otros sustratos como acetato, formiato y compuestos de metilo (metanol, mono, di y tri-metilamina) para formar CH<sub>4</sub> (Ellis *et al.* 2007; Deppenmeier 2002).

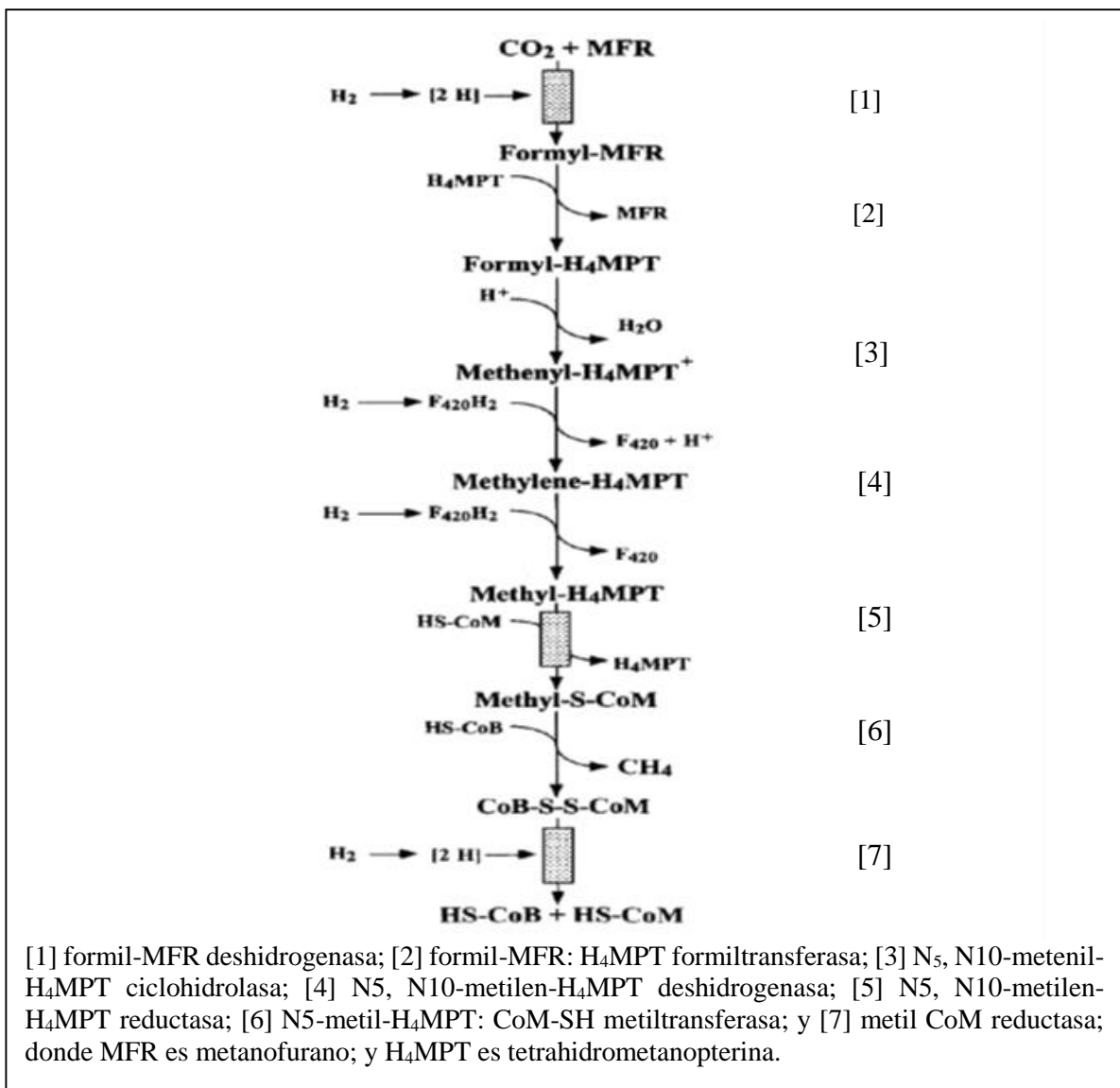


**Figura 1: Metabolismo de carbohidratos en el rumen y metanogénesis.**

**FUENTE: Knapp *et al.* (2014)**

Durante la fermentación de glucosa o la glucólisis, los cofactores reducidos, como el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADH), deben reoxidarse a NAD<sup>+</sup> para que el proceso de fermentación continúe y permita el crecimiento microbiano. Después de la glucólisis, la oxidación de NADH a NAD<sup>+</sup> puede acoplarse directamente a los productos formados a partir de piruvato. El acetato, que es el principal AGV formado cuantitativamente a partir del piruvato, no se acopla directamente con la oxidación de NADH y, por lo tanto, el NADH se oxida a través de la producción de H<sub>2</sub>. Sin embargo, el NADH se reduce termodinámicamente a una presión parcial elevada de H<sub>2</sub> en el rumen. Por lo tanto, los metanógenos utilizan H<sub>2</sub> para reducir el CO<sub>2</sub> a CH<sub>4</sub> y mantener la presión parcial de H<sub>2</sub> a un nivel bajo para permitir que NADH se vuelva a oxidar a NAD<sup>+</sup> (Hegarty y Gerdes 1999).

El uso de  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2$  como sustratos para la producción de  $\text{CH}_4$  implica una serie de reacciones químicas que requieren cofactores y enzimas que dirigen el flujo de electrones a través de cuatro intermedios reductores (es decir, formilo, metenilo, metilenilo y metilo) con  $\text{CH}_4$  como producto final (Figura 2; Deppenmeier 2002). Sin embargo, en las arqueas metanogénicas, todos los demás sustratos metanogénicos usan metil-CoM como el intermediario central con la enzima metil-S-CoM reductasa para la conversión de metil-CoM en  $\text{CH}_4$  (Deppenmeier 2002). El uso de  $\text{CO}_2$  como usuario terminal de carbono y sumidero de  $\text{H}_2$  muestra la importancia de los metanógenos para la fermentación microbiana del rumen (Morgavi *et al.* 2010).



**Figura 2: Vía de metanogénesis a partir de sustratos de  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2$ .  
FUENTE: Deppenmeier (2002)**

La eliminación de H<sub>2</sub> es esencial para mantener una alta tasa de fermentación ruminal, lo que significa que los metanógenos contribuyen indirectamente a la digestión de las fibras vegetales, así mismo, permite mantener el pH ruminal en condiciones estables para la actividad microbiológica, y constituye la principal forma de eliminación de los hidrogeniones producidos durante la síntesis de Adenosín trifosfato (ATP) por los microorganismos anaerobios del rumen (Moss *et al.* 2000; Van Soest 1994). Sin embargo, debido al alto contenido de energía en CH<sub>4</sub> (13.3 Mcal / kg), la pérdida de energía en forma de CH<sub>4</sub> compensa parcialmente el efecto positivo de los metanógenos en la digestión de la fibra. En ese sentido, la metanogénesis y la eliminación de los gases son un componente esencial en el rumen (Clark *et al.* 2011) ya que, por ello, cualquier estrategia que intente modificar la producción de metano ruminal debe tener en cuenta una forma alternativa de remoción de los hidrogeniones, sin que eso constituya un perjuicio de la eficiencia del sistema digestivo (Clark *et al.* 2011).

La relación de AGV es un aspecto por considerar, especialmente las relaciones acético/propiónico producidos ya que regulan la producción de hidrogeniones (H<sub>2</sub>) y por ende la producción de CH<sub>4</sub> (Johnson y Johnson 1995). En ese sentido, una mayor producción de acético y butírico favorece el incremento de la concentración de dos y cuatro moles H<sub>2</sub>, mientras que la formación de propionato implica captura de dos moles de H<sub>2</sub> en el medio. Por lo que, un vacuno en condiciones normales promedio propicia la formación de los tres principales AGV en la siguiente relación: ácido acético (55mmol/L): ácido propiónico (20 mmol/L): ácido butírico (10 mmol/L), o visto de esta otra manera, por cada molécula de glucosa (que tiene 6 C) se puede generar 2 acetatos o 2 propionatos o 1 butirato (Church 1990) es por ello por lo que una de las grandes tendencias en cuanto a estrategias de mitigación es reducir la proporción de ácido acético (Knapp *et al.* 2014).

Las pérdidas de CH<sub>4</sub> en términos de energía se conoce como factor de conversión (Y<sub>m</sub>) (Yield Methane, por sus siglas en inglés) (Lasey 2007) y expresa la fracción de la energía bruta ingerida (EBI) del alimento que se transforma en metano. El valor de Y<sub>m</sub> depende de la calidad y la digestibilidad de las distintas dietas. Los valores de Y<sub>m</sub> que se encuentran en la bibliografía varían entre el dos y el 12% de la energía ingerida para distintas dietas (Johnson y Johnson 1995). El IPCC (2007) propone valores de Y<sub>m</sub> entre el dos por ciento para sistemas en confinamiento intensivo con dieta a base de concentrados con inclusión de hasta 90% y del 7,5% para los vacunos en diferentes sistemas de manejo al pastoreo, por lo que



el valor típico de  $Y_m$  reportado por el IPCC para animales en pastoreo es de 6,5% que corresponde a una relación de 19,8 g  $CH_4$ /por cada kg MS consumida, debido a que, por lo general, los alimentos contienen alrededor de 18,4 Mj de EB/kg MS y el  $CH_4$  contiene 55,65 Mj/kg (Lassey 2007).

## **2.4 EFECTO DEL CONSUMO, COMPOSICIÓN QUÍMICA Y DIGESTIBILIDAD DEL ALIMENTO SOBRE LA EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO POR LOS RUMIANTES**

Se han identificado varios factores que influyen en la emisión de metano entérico por los rumiantes. Factores relacionados con el alimento, como cantidad de alimento consumido, características físicas, composición química, digestibilidad (Carmona *et al.* 2005; Jonker *et al.* 2017; Lassey *et al.* 2011; Moss *et al.* 2000). Factores los relacionados al animal y sus interacciones, tales como: peso, edad, especie, factor genético, fisiología digestiva, fermentación ruminal, de la microflora ruminal presente en el animal (Dämmgen *et al.* 2012), de los parámetros productivos del animal, tales como, estado fisiológico, nivel de producción (ganancia de peso, de leche y porcentaje de grasa y/o proteína) (Dämmgen *et al.* 2012; Ramírez-Restrepo *et al.* 2015; Crutzen *et al.* 1986; Moss *et al.* 2000; Anderson *et al.* 1987). Sin embargo, hay evidencias que la tasa de emisión de metano entérico, están más relacionados con la cantidad de alimento consumida y la calidad de la dieta (composición química, digestibilidad, concentración energética) (Blaxter y Clapperton 1965; Beauchemin *et al.* 2008; Yan *et al.* 2010; Jonker *et al.* 2017).

La emisión de  $CH_4$  liberado aumenta con la cantidad de alimento ingerido (Jonker *et al.* 2017; Lassey *et al.* 2011), por lo tanto, al aumentar la biomasa disponible del forraje, se incrementa el consumo y por ende aumentan las emisiones de metano (Pinares-Patiño *et al.* 2003b), aunque puede disminuir la tasa de producción de metano por kilogramo materia seca consumida al aumentar el nivel de alimentación (Blaxter y Clapperton 1965; Johnson y Johnson 1995), debido a que las dietas de buena digestibilidad y altos consumos presentan mayores niveles de energía aprovechada, por lo tanto, menores producciones de metano (Johnson y Johnson 1995). Un aspecto relacionado con el nivel de consumo es la tasa de pasaje del alimento, al respecto, Moss *et al.* (2000) señalan que la producción de metano disminuye en un 30% cuando la tasa de pasaje de las fases líquida y sólida aumenta de 54 a 68%.

Las características físicas y químicas del alimento también son considerados factores que influyen en la producción de metano porque afectan directamente el nivel de consumo y la frecuencia de alimentación, al generar una subnutrición que contribuye a incrementar la emisión de metano (Montenegro y Abarca 2000; Carmona *et al.* 2005). Esta variación se debe fundamentalmente a que al aumentar la ingestión de materia seca se acelera el paso del alimento por el aparato digestivo, disminuyendo el tiempo disponible para la fermentación ruminal especialmente del material fibroso (Blaxter y Clapperton 1965; Hindrichsen *et al.* 2006; Perry *et al.* 2016). Una baja disponibilidad de forraje limita al animal realizar el proceso de selectividad de las partes del forraje de mayor calidad (Tarazona *et al.* 2012; Ominski *et al.* 2004) por lo que las emisiones de metano aumentan por unidad de consumo (Pinares-Patiño *et al.* 2003b). Johnson y Johnson (1995) determinaron que la emisión de CH<sub>4</sub> (g CH<sub>4</sub>/Kg MS) disminuye en 1.6 % por cada unidad de consumo adicional.

Jonker *et al.* (2017) estimaron que la variación de la producción de metano por unidad de consumo, el 90.8% puede ser explicado por la variación de la materia seca consumida (MSC). Por su parte, Boadi y Wittenberg (2002) reportaron que la variación de la MSC tan solo explica un 64% de la variación de la producción de metano. Sin embargo, Lassey *et al.* (1997) empleando la técnica del trazador SF<sub>6</sub> en ovinos al pastoreo observaron la variación de la MSC tan solo aporta en 14% a la variación en la producción de metano, además de presentar una baja correlación de entre la MSC ( $r^2=37\%$ ) y la producción de metano (g/día).

Yan *et al.* (2010) mencionan que la producción de metano depende de la calidad de la dieta, por lo que, alimentar con dietas altas en concentraciones de energía metabolizable se considera un método eficaz para reducir las emisiones de metano entérico al estar asociada a la optimización de la energía metabólica de la dieta (Johnson y Johnson 1995). Así mismo, la producción de metano es afectada por múltiples factores, sin embargo, en términos generales, las dietas con mejor contenido nutricional y más digestibles tienen una menor producción de metano (Boadi y Wittenberg 2002; Jonker *et al.* 2017; Lassey *et al.* 2011; Johnson y Johnson 1995). Por su parte, Beauchemin *et al.* (2008) señalan que la manipulación de la digestibilidad del alimento es una de las formas más eficientes de disminuir la emisión de metano. Además, Yan *et al.* (2010), manifiestan que también pueden influir en la emisión de metano entérico: la cantidad de energía, su distribución y la eficiencia de su utilización.

Johnson y Johnson (1995) señalan que a pesar de que muchos estudios concuerdan que el principal factor que varía la emisión de CH<sub>4</sub> por unidad de consumo es la variación de la MSC, sin embargo, Demarchi *et al.* (2016) indica que muchas de las fórmulas de predicción de CH<sub>4</sub> entérico en base a la MSC presentan reportes con altas variaciones que no pueden ser explicadas por sí mismos, por lo que Moe y Tyrrell (1979) indican que esas variaciones en la emisión de metano entérico provienen de la fermentación de la fibra, debido a que el contenido de fibra detergente neutro (FDN) así como la digestibilidad de los forrajes varían considerablemente, y es ampliamente conocida que la digestión de la fibra influye significativamente en la emisión de CH<sub>4</sub>. Con relación a la digestibilidad de las pasturas, se ha observado que existe una relación negativa entre las pérdidas de energía bruta consumida (EBC) en CH<sub>4</sub> y la digestibilidad de los forrajes (Harper *et al.* 1999, Vermorel 1995).

Molano y Clark (2008) señalan que existirá esta relación siempre y cuando las características de la dieta a utilizar produzcan cambios en el ambiente ruminal (variación de pH, tasa de pasaje, etc.) que afecten la relación de AGV producidos y por ende la producción de metano. En ese mismo sentido, también fue reportado por Clark *et al.* (2011) y Johnson y Johnson (1995) que la relación entre las pérdidas de EB consumida en CH<sub>4</sub> y la digestibilidad de los forrajes, por si sola, no permite explicar las variaciones en las emisiones de CH<sub>4</sub> ruminal.

Benchaar *et al.* (2001) y Hindrichsen *et al.* (2006) manifiestan que además de la digestibilidad de los forrajes se debe observar el consumo, porque existe una relación negativa entre este consumo y las pérdidas de CH<sub>4</sub>/kg MS consumida, la cual, a su vez, es más notorio en dietas con alta digestibilidad. Robertson y Waghorn (2002) en un trabajo con vacas lecheras en pastoreo reportan que durante el pastoreo en verano las pérdidas de la EB consumida como CH<sub>4</sub> fueron entre el seis al siete por ciento, mientras que en primavera estos animales perdieron entre el 4,5 al 5,3%, respectivamente, que estaría asociado con una disminución de la digestibilidad del forraje y del consumo (por mayor tiempo de retención). Por lo que, alimentar con forrajes de alta digestibilidad, a niveles que tengan efecto sobre los parámetros ruminales (pH, producción y relación de AGV, tasa de pasaje, etc.) y por consiguiente sobre el consumo, podría ser una estrategia para disminuir las emisiones de CH<sub>4</sub> y mejorar la productividad animal, lo cual coincide con lo reportado por Clark *et al.* (2011), Kasuya y Takahashi (2010), Williams *et al.* (2005).

Van Soest (1994) manifiesta que el consumo de forraje se incrementa cuando la digestibilidad será mayor siempre y cuando la relación carbohidratos solubles sobre los carbohidratos estructurales sea inversamente proporcional, especialmente cuando el contenido de lignina se encuentre significativamente reducida, ocasionado que disminuya la producción de metano por unidad de materia seca digestible (Boadi y Wittenberg 2002). Dall-Orsoletta *et al.* (2016) manifiestan que animales que tuvieron similares consumos de materia seca presentaron diferentes emisiones de CH<sub>4</sub> debido principalmente al efecto del contenido de FDN. La concentración de FDN es heterogénea con respecto a la composición química, digestibilidad y por ende diferente potencial para producir CH<sub>4</sub>. Aguerre *et al.* (2011) encontraron que por cada gramo de FDN consumido se emite 10.3 gramos de CH<sub>4</sub>. En ese sentido, Primavesi *et al.* (2003) compararon las emisiones de metano provenientes de animales en pastoreo que recibieron una suplementación con dos variedades de caña de azúcar con relaciones extrema de FDN: sacarosa que propició un mayor y menor contenido de FDN de las dietas, respectivamente. Reportaron que el uso de la variedad con una menor proporción de FDN: sacarosa, produjo un 30% menos metano, así como por unidad de peso vivo en relación con la dieta con mayor relación FDN: sacarosa.

En relación con la FDN, Pinares-Patiño *et al.* (2003b), Kasuya y Takahashi (2010), reportan una alta correlación entre la producción de metano y la FDN consumida (kg/d) ( $r=0,73$  y  $0,99$ ;  $p<0,01$ , respectivamente). Además, Kasuya y Takahashi (2010) reportan una alta correlación entre la emisión de CH<sub>4</sub> y el consumo de FDN digestible ( $r = 0,84$ ;  $p<0,01$ ). Este efecto de la FDN digestible consumida es explicada por ser una medida (indicador) del nivel de consumo de carbohidratos estructurales digestibles, y la producción de metano entérico está ligada mayormente a la fermentación y digestión de la fracción fibra del alimento en el rumen, por lo que este indicador es reconocido como un buen predictor de la producción de metano ruminal.

Chandramoni *et al.* (2000) señala que el principal componente en la producción de metano está dado por la relación entre el tipo de carbohidrato y la tasa de fermentación. El tipo de carbohidrato fermentado influye en la producción de metano a través de su acción directa en el pH y sobre la población microbial, debido a que las bacterias metanógenas son altamente dependientes del pH, el cual resulta en un factor importante para la predicción de la producción de metano cuando se relaciona la producción de metano con el metabolismo ruminal. Los forrajes de baja calidad no ocasionan una disminución significativa del pH

ruminal y están asociadas a una alta producción de metano. Mientras que raciones con altos contenidos de alimentos concentrados, disminuyen la producción de metano, siempre y cuando la materia seca consumida (MSC) sea lo suficientemente alto para causar una reducción en el pH ruminal (Van Kessel y Russell, 1996).

Moss *et al.* (2000) señalan que dietas forrajeras que propicien una disminución del pH ruminal disminuyen la metanogénesis, independiente de la formación del ácido propiónico. Van Kessel y Russell (1996) señalan, que cuando evaluaron el efecto del pH sobre la metanogénesis ruminal, observaron que las bacterias provenientes de vacas alimentadas con forraje fueron incubadas en un medio basal que contenía 100 mM de ácido acético (pH 7.0), el hidrógeno y el dióxido de carbono sintetizaban más metano, pero a medida que modificaban con la finalidad de disminuir el pH, la tasa de producción de metano disminuyó drásticamente a pH menores a 6.5, y prácticamente se inhibió la producción del mismo a pH menores a 6.0, concluyendo que la producción de metano fue dependiente del pH, debido a tres aspectos: 1) Las bacterias metanogénicas son sensibles a pH bajos, 2) La disminución en la relación de los ácidos acético: propiónico dependiente del pH es posiblemente causada por una inhibición de la metanogénesis, y 3) La inhibición de la metanogénesis es causada por la toxicidad de los ácidos de la fermentación que se produce a un pH bajo.

Moe y Tyrrell (1979), manifiestan que los carbohidratos estructurales producen una mayor emisión de metano cuando la relación ácido acético: propiónico es amplia, lo cual se debe a una menor digestibilidad producto del proceso de lignificación que se acentúa con la madurez de la planta (FAO 2013b). Esto sucede porque la lignina y los ácidos fenólicos se acumulan y mediante puentes con el ácido ferúlico forman enlaces mixtos e insolubles con los polisacáridos de la pared celular limitando de esta manera la degradación de estos carbohidratos por los microorganismos presentes en el ecosistema ruminal (Jung y Allen 1995).

La producción de metano puede variar dependiendo de la tasa de degradación de la fibra y del nivel de consumo. Esa así que en algunos subproductos de destilería que poseen alta concentración de fibra y tienen buena digestibilidad, presentan menor producción de metano (Johnson y Johnson 1995). Así mismo, alimentos que poseen mayores contenidos de carbohidratos solubles y amiláceos permiten un mayor nivel de materia seca consumida, disminución del pH ruminal, incremento de degradación del almidón y reducción de la

degradación de la pared celular, aumento de la actividad de los microorganismos amilolíticos e inhibición de los celulíticos, mayor producción del ácido propiónico, provocando una disminución de la relación metano/materia orgánica fermentada en el rumen y por ende menores emisiones de metano (Moss *et al.* 2000; Boadi y Wittenberg 2002; Van Soest 1994; Demarchi *et al.* 2016). Kurihara *et al.* (1999) evaluaron la producción de metano y la partición de la energía por ganado vacuno en condiciones de trópico, con dos tipos de forrajes característicos de zonas tropicales, determinaron que la producción de metano (gr/día) de los animales alimentados con el pasto Rodhes (*Chloris gayana*) fue mayor a los alimentados con pasto Ángleton (*Dichanthium aristatum*) y ambos fueron aún mayores que los alimentados con dieta alta en grano. Así mismo, observaron que la producción de metano es mayor y la utilización de la energía menor que lo observado en los forrajes de zonas templadas. Mientras que, con la dieta con alto contenido de granos, fueron similares a los reportados por diversos autores en dietas tradicionales de zonas templadas. Por lo que presumen que la alta producción de metano en forrajes tropicales está directamente relacionada con los altos niveles de fibra, de lignina y por ende a su baja digestibilidad.

Johnson y Johnson (1995) observaron que los granos de destilería producen la mitad o la tercera parte de CH<sub>4</sub>/kg MSC, debido a su alta digestibilidad de la FDN en comparación con forrajes con similar digestibilidad de la FDN y señalan que los componentes que conforman la FDN, podrían explicar las diferencias en las producciones de metano, debido a que los granos de destilería, tienen una alta relación hemicelulosa/celulosa (1.5-1.6/1) en comparación con las gramíneas (0.67/1) y leguminosas (0.35/1). Moe y Tyrrell (1979) basándose en esas observaciones, estimaron que la hemicelulosa al degradarse en el rumen produce 37 % menos CH<sub>4</sub> que la degradación de la celulosa. Así mismo, determinaron que la proporción relativa de los principales ácidos grasos volátiles de cadena corta (AGVCC) en el rumen es influenciado directamente por la relación entre la fibra detergente neutro (FDN) y los carbohidratos no fibrosos (CNF). La síntesis de ácido propiónico consume 2H<sup>+</sup> (equivalentes reductores), mientras que el ácido acético y butírico generan 2 y 4 H<sup>+</sup> para la metanogénesis (Knapp *et al.* 2014). En este sentido dietas basadas en forrajes con altos niveles de celulosa, hemicelulosa y lignina favorecen la producción del ácido acético y butírico, mientras que dietas basadas en granos tienden a aumentar la producción de ácido propiónico (Johnson y Johnson 1995).

En cuanto a la asociación entre una mayor concentración de proteína cruda con la disminución en las emisiones de metano, han sido reportadas en varios trabajos con pasturas de clima templado. Navarro-Villa *et al.* (2011) utilizando *Lolium perenne* cv Greengold que posee tres por ciento más de proteína cruda observaron una disminución de siete por ciento en la emisión de metano por unidad de materia seca. En este mismo sentido, Ellis *et al.* (2012) simularon la producción de metano en relación a la energía consumida a partir de variedades forrajeras con altos contenidos en azúcares solubles y ricas en contenido de proteína cruda, observaron un incremento en la emisión de CH<sub>4</sub> entre dos y siete por ciento en las dietas altos contenidos en azúcares solubles, mientras que cuando se expresó por unidad de producto disminuyeron las emisiones de metano entre cero y dos por ciento siempre y cuando disminuía el contenido de fibra, además cuando en la dieta aumentaron el contenido de la proteína, propició una disminución de las emisiones entre tres y 13%.

Las dietas en base a forrajes presentan mayor Y<sub>m</sub> que dietas en base a concentrados (Harper *et al.* 1999), sin embargo, existen también diferencias de pérdidas de energía bruta ingerida como CH<sub>4</sub> en función del tipo de forraje (Ramírez- Restrepo y Barry 2005). Montenegro y Abarca (2000), realizaron un ensayo con dos gramíneas de clima tropical, observaron que el pasto Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) presentaba una menor producción de metano debido a una mayor eficiencia en la producción de leche que el pasto Estrella Africana (*Cynodon nlenfuensis*). Sin embargo, en ambas pasturas la producción de metano presenta una tendencia a incrementarse a medida que la edad de pasto aumenta, debido al aumento en el contenido de material lignocelulósico.

La incorporación de forrajes de alta calidad nutricional como las leguminosas en la dieta de los bovinos en pastoreo mejoran los parámetros productivos concomitantes y conducen a una menor emisión de CH<sub>4</sub> por unidad de MSC, comparado con la emisión obtenida en pasturas de baja calidad, como es el caso de algunas gramíneas forrajeras (Ramírez-Restrepo y Barry 2005). Además, las gramíneas presentan mayor contenido de pared celular que las leguminosas, sin embargo, la digestibilidad de la FDN es mayor con respecto a la fibra de las leguminosas (Jung y Allen 1995). Mientras que las leguminosas por presentar más bajo contenido de FDN genera mayores tasas de pasaje que propician una menor producción de metano en comparación con las gramíneas (McCaughy *et al.* 1999; Waghorn y Woodward 2006; Kasuya y Takahashi 2010).

El efecto de las leguminosas en la disminución de la metanogénesis posiblemente este dado a nivel de los procesos de reducción de sustrato, donde los componentes nitrogenados compiten por el H<sub>2</sub> y el formato que son los principales sustratos para la metanogénesis, además, ocasionan una disminución del pH ruminal y una reducción de la relación acético/propiónico (Williams *et al.* 2005), lo cual baja el exceso de H<sub>2</sub> en rumen y por ende la metanogénesis. Así mismo, Waghorn y Woodward (2006) manifiesta que en pasturas con predominio de gramíneas naturales o introducidas, la pérdida de energía bruta ingerida como CH<sub>4</sub> es mayor en relación a la obtenida con pasturas con predominio de leguminosas, debido a que las gramíneas proporcionan mayores niveles de fibra que estimulan la rumia, mayor tiempo de masticación mayor re-ensalivación, menor tasa de pasaje y mayor tasa de fermentación, con formación de altos niveles de ácido acético e H<sub>2</sub>, por lo que aumenta la metanogénesis.

Lee *et al.* (2004) observaron que la incorporación de las leguminosas como asociaciones en pasturas a base de gramíneas en una proporción menor a 30% de la mezcla no reduce la emisión de CH<sub>4</sub>, debido a que no logra disminuir la tasa de pasaje y fermentación ruminal, así como, modificar las relaciones de AGV requeridas para disminuir la metanogénesis. Por el contrario, se ha reportado que cuando se incorpora proporciones mayores de 30% leguminosas, se logra un incremento lineal de la MS ingerida y una reducción entre 10-16% la producción de metano por unidad de MS (Lee *et al.* 2004; McCaughey *et al.* 1999). Hess *et al.* (2003) y Tiemann *et al.* (2008) realizaron estudios con leguminosas y gramíneas de climas tropicales y reportaron resultados completamente diferentes a los estudios con forrajes de climas templados. La inclusión de leguminosas presentó un aumento en las emisiones de metano por unidad de materia orgánica fermentada respecto a gramíneas, lo cual lo asociaron a una mayor degradabilidad de los nutrientes.

Hess *et al.* (2003), evaluaron la inclusión en proporciones crecientes (33, 66 y 100%) del *Arachis pintoi*, una leguminosa baja en taninos sobre una dieta a base de gramínea (*Brachiaria humidicola*) y encontraron una relación lineal creciente entre la inclusión de leguminosa y la producción de metano por unidad de FDN fermentada. En ese mismo sentido, Tiemann *et al.* (2008) determinaron que al incluir la leguminosa *Vigna unguiculata* baja en taninos a una dieta a base de gramínea (*Brachiaria humidicola*) en proporción 1:2 y comparando con la gramínea pura, sugieren un aumento del 35% en la producción de metano por unidad de FDN fermentada.



Woodward *et al.* (2001) y Pinares-Patiño *et al.* (2003a) concuerdan que para observar el efecto de la incorporación de leguminosas en las pasturas sobre la reducción de la emisión de CH<sub>4</sub> ruminal en bovinos y ovinos, se debe tener en cuenta aquellas especies o variedades que sean ricas en compuestos secundarios como taninos condensados (TC), saponinas, y de hidratos de carbono como la pectina. Hess *et al.* (2003), señalan que los taninos presentes en muchas leguminosas, como *Calliandra calothyrsus*, pueden estar asociados con la reducción en la producción de metano, hasta en un 50%, respecto a una dieta tradicional de gramíneas. Si embargo, también manifiesta que cuando se utilizan leguminosas con bajas concentraciones de TC especies como *Cratylia argentea* y *Arachis pintoi*, se incrementaron los niveles de metano hasta 3-4 veces con respecto a una dieta con solo gramínea.

## **2.5 METODOLOGÍAS PARA MEDIR LAS EMISIONES DE METANO ENTÉRICO DE LOS RUMIANTES**

En la actualidad existen diferentes metodologías para determinar las emisiones de metano entérico de los rumiantes, sin embargo, se necesitan técnicas de medición confiable y precisas a fin de mejorar las estimaciones contables de GEI para los niveles 2 y 3 del IPCC que permitan la generación de créditos de carbono (Bhatta *et al.* 2008; Goopy *et al.* 2016). Las emisiones de metano de la agricultura deben estar bien definidas, especialmente para los sistemas de producción de rumiantes donde se generan inventarios nacionales de ganado (Goopy *et al.* 2016). Así mismo, Primavesi *et al.* (2004) manifiesta que para facilitar el desarrollo de estrategias que reduzcan la emisión de CH<sub>4</sub> por la explotación bovina, es necesario cuantificar la emisión de las distintas categorías de animales en las condiciones más diversas de manejo de alimentos. La ingesta de alimento es un impulsor clave de la producción de metano entérico (PME) y la medición de PME en los sistemas de producción de pequeños productores enfrenta muchos desafíos, incluida una marcada heterogeneidad en los sistemas y la base de alimento, así como una fuerte estacionalidad en el suministro y la calidad del alimento (Goopy *et al.* 2016). Existen diferentes métodos, con distintas condiciones de aplicación, que se vienen utilizando y otros se están desarrollando para cuantificar esas emisiones de metano (Morais *et al.* 2015).

Las técnicas de medición para determinar la emisión de metano a diferentes escalas van desde estudios *in vitro* hasta mediciones individuales de animales, rebaños y de granjas (Morais *et al.* 2015; Goopy *et al.* 2016). El conocimiento profundo de las ventajas y desventajas de estos métodos es muy importante para planear experimentos, comprender, interpretar resultados experimentales y compararlos con otros estudios (Morais *et al.* 2015).

Por lo que, Goopy *et al.* (2016) manifiesta que independientemente de la estrategia de mitigación impuesta, cualquier reducción en la producción de metano entérico se debe cuantificar y para que esto se logre, son esenciales la cuantificación precisa de los datos de emisiones de metano como línea base. Los métodos relevantes para el estudio como producción de gas *in vitro*, SF<sub>6</sub>, modelos de estimación de la dieta son descritos ampliamente, Los otros métodos son mostrados en la tabla 1.

### 2.5.1 Métodos indirectos

#### a. La técnica *in vitro* de producción de gases

La técnica *in vitro* de producción de gases (TIVPG) ha sido utilizado durante décadas para simular la fermentación de los alimentos y dietas (Rymer *et al.* 2005). En los últimos años ha sido modificada para estimar la producción de metano (Navarro-Villa *et al.* 2011; Pellikaan *et al.* 2011). La TIVPG generalmente es la opción inicial para la evaluación de estrategias de reducción o de inhibición de la producción de metano, siendo una técnica muy útil, como primer enfoque para probar potenciales alimentos y aditivos, o cuando se requieren condiciones de incubación controlada (Goopy *et al.* 2016).

El principio básico de la TIVPG es fermentar alimentos bajo condiciones controladas de laboratorio. La principal desventaja de la TIVPG es que no representa las emisiones de metano de todo el animal (Goopy *et al.* 2016), sólo determina las emisiones de CH<sub>4</sub> referentes a la fermentación ruminal (pre-gástrica) descuidando la digestión del alimento que se producen en el tracto gastrointestinal (pos- gástrica) y de las emisiones de CH<sub>4</sub> que en ella se producen. Por lo tanto, debido a estas limitaciones los resultados de la TIVPG siempre deben interpretarse con cuidado (Morais *et al.* 2015). Sin embargo, Bhatta *et al.* (2006) y Bhatta *et al.* (2008) observaron una buena correlación positiva entre las técnicas *in vitro* e *in vivo*, cuando compararon las mediciones de CH<sub>4</sub> por las técnicas TIVPG, marcador SF<sub>6</sub> y cámara respirométrica, respectivamente.

La medición del volumen de gases puede realizarse con la ayuda de un transductor de presión o voltímetros, y el análisis de la concentración de CH<sub>4</sub> puede realizarse por cromatografía gaseosa. En ese sentido, se han desarrollado varios sistemas para medir la producción de gas *in vitro*, que varían considerablemente en complejidad y sofisticación. Menke *et al.* (1979) describen un método manual utilizando jeringas que implica el registro constante del volumen de gas producido. Más recientemente, otros han descrito un sistema que utiliza transductores

de presión (Theodorou *et al.* 1994). Una variante a estos dos sistemas actualmente está disponible el sistema que utiliza módulos con sensores de presión de radiofrecuencia de ANKOM Technology®), que se comunican con una interfaz de computadora y un software dedicado a registrar valores de presión de gas (Goopy *et al.* 2016).



**Figura 3: Técnica *in vitro* de producción de gases y emisión de metano entérico de Hohenheim (Hohenheim Gas Test) descrito por Menke y Steingass (1988). FUENTE: Alvarado (2018).**

#### **b. Modelos de estimación de metano entérico en rumiantes**

Las mediciones de emisión de metano suelen ser complejas, costosas y es necesario contar con equipos especializados (Kebreab *et al.* 2006; Hammond *et al.* 2016). El CH<sub>4</sub> se estima a partir de la ingesta de alimento utilizando modelos, generalmente desarrollados a partir de datos experimentales previos. Esta metodología por lo general es aplicada en casos donde las mediciones no son posibles y requieren estimaciones del consumo de alimento, lo que puede ser difícil de obtener. La capacidad de predecir con precisión la producción de metano está limitada a los supuestos y condiciones que deben cumplirse para cada ecuación en particular (Goopy *et al.* 2016). En ese sentido, todos los trabajos que utilizan esta metodología coinciden como principal limitante en la generación de las ecuaciones de predicción, que se requiere una extensa data a partir de numerosos ensayos y bajo diferentes sistemas o estrategias de manejo alrededor del mundo (Niu *et al.* 2018). En la actualidad, se pueden encontrar varios estudios realizados con la finalidad de establecer ecuaciones de predicción para emisiones de metano (Mills *et al.* 2003; Yan *et al.* 2006; Ellis *et al.* 2007; Grainger *et al.* 2007). La mayoría de las ecuaciones de predicción de metano parten de la

base de determinar el consumo de materia seca (CMS) debido a que la producción de este gas depende directamente de este factor (Buddle *et al.* 2011; Jonker *et al.* 2017). Sin embargo, se conoce que la emisión de metano también depende de la calidad del alimento ingerido (Boadi *et al.* 2002; IPCC 2007). Santiago-Juárez *et al.* (2016) manifiestan que las ecuaciones que mejor predicen las emisiones de metano y minimizan el error, son la que toman en cuenta la concentración de fibra detergente neutro (FDN) y la energía metabolizable (EM). Así mismo, los modelos de predicción de emisión basados en el balance de la fermentación de los componentes de los alimentos son utilizados para estimar la producción de metano. Estas ecuaciones son útiles, sin embargo, los supuestos y condiciones que deben lograrse para cada ecuación limita su capacidad de predicción de la emisión de metano, particularmente bajo condiciones de pastoreo (IPCC 2007; Cambra-López *et al.* 2008). Existen varios *softwares* que utilizan ecuaciones de predicción de metano y uno de ellos es el programa LifeSim v15.1, que es un modelo diseñado para simular y analizar la producción bajo diferentes escenarios de estrategias de alimentación en términos de su rendimiento biofísico y económico (León-Velarde *et al.* 2006) y estima las emisiones de CH<sub>4</sub> a través de las siguientes ecuaciones:

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

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

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

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

### 2.5.2 Métodos directos

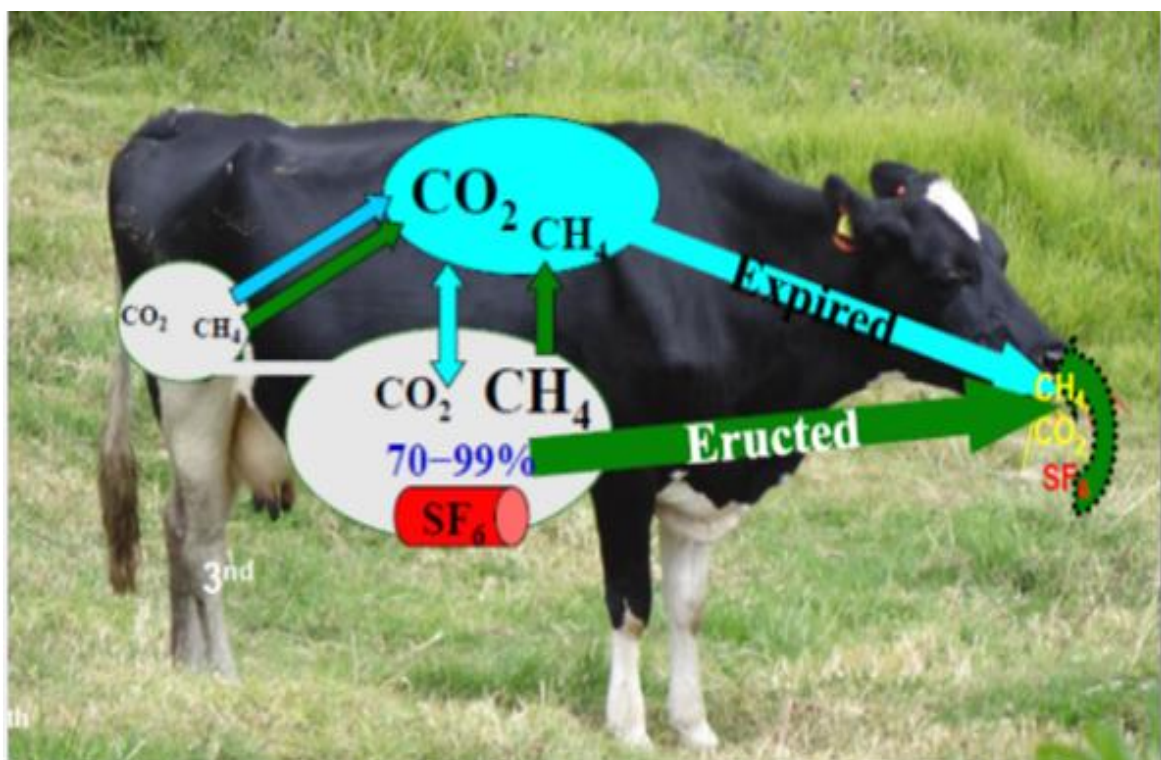
Los métodos directos más relevantes para el estudio sobre emisión de metano entérico por los rumiantes, además de la técnica del trazador SF<sub>6</sub>, son descritos en el cuadro 1.

#### a. El método del gas trazador hexafluoruro de azufre

La técnica se fundamenta en la liberación de una cantidad conocida del gas trazador contenido en un tubo pre calibrado permeable colocado en el rumen, y la medición subsecuente de la relación de este gas en muestras representativas de aire expirado por los animales en prueba, los trazadores más usados son óxido nitroso y hexafluoruro de azufre. (Tonini *et al.* 2007; Johnson y Johnson 1995).

- **El trazador hexafluoruro de azufre** (SF<sub>6</sub>, por sus siglas en inglés), es una técnica que permite la medición de las emisiones de CH<sub>4</sub> para rumiantes sin las limitaciones

encontradas en otras técnicas, que permite realizar la medición con los animales en situación normal de pastoreo (Johnson y Johnson 1995). Esta técnica utiliza una pequeña cápsula de impregnación con SF<sub>6</sub> con tasa de liberación conocida, que se inserta en el rumen del animal. Su principal ventaja de esta técnica radica en que permite estimar el CH<sub>4</sub> en condiciones de pastoreo, es más económica en comparación con las cámaras respiratorias, además, brinda información de animales individuales (Pinares-Patiño y Clark 2008). Sin embargo, su principal limitante es que presenta alta variabilidad en las emisiones de CH<sub>4</sub> entre animales y entre días de colecta (Lassey *et al.* 2011; Pinares-Patiño y Clark 2008). La técnica SF<sub>6</sub> se fundamenta en que el CH<sub>4</sub> producido por el animal es exhalado en cantidades mayores al 95% por las fosas nasales y la boca del animal (Figura 4) (Lassey *et al.* 2011; Pinares-Patiño y Clark 2008). El gas SF<sub>6</sub> es un gas no tóxico, fisiológicamente inerte y estabilizado (Ulyatt *et al.* 1999). Así mismo, este gas se mezcla fácilmente con los otros gases producidos en el rumen, especialmente con el CH<sub>4</sub>, además puede ser detectado a concentraciones muy bajas (partes por trillón, ppt).



**Figura 4: Método del gas trazador hexafluoruro de azufre**

Las concentraciones de CH<sub>4</sub> y SF<sub>6</sub> se determinan por cromatografía de gases (Lassey *et al.* 2011; Ulyatt *et al.* 1999). Con esta técnica se elimina la necesidad de encerrar animales en jaulas o cámaras barométricas y permite manejar al animal en condiciones de pastoreo

normal. También no es necesario realizar el muestreo en el rumen o en la faringe del animal, ya que el marcador sigue los cambios en la dilución asociada con el movimiento de la cabeza del animal o el aire cuando eructa y respira la mayor parte del CH<sub>4</sub> los rumiantes, la colección de aire alrededor de la boca y las fosas nasales, resulta en una estimación exacta de la producción de metano por el animal. Así mismo, el CH<sub>4</sub> presente en el intestino grueso que es absorbido en el torrente sanguíneo, también es medido por la técnica de SF<sub>6</sub> (Westberg *et al.* 1998).



Lassey *et al.* (2011), Pinares-Patiño y Clark (2008) señala que su principal desventaja de la técnica son: la precisión y confiabilidad de la tasa de permeación. Grainger *et al.* (2007) realizaron un estudio comparativo con la finalidad de determinar la precisión de la técnica del gas trazador SF<sub>6</sub> con relación a la técnica de cámara respiratoria (considerada como clásica y estándar), los resultados obtenidos no presentaron diferencias significativas entre ambas técnicas. Sin embargo, encontraron diferencias en cuanto a la variabilidad, siendo la metodología SF<sub>6</sub> (6.1%) superior a lo encontrado con cámaras respiratorias (4.3%). Sin embargo, McGinn *et al.* (2006) mencionan que la técnica del gas trazador SF<sub>6</sub> subestima la emisión de CH<sub>4</sub> en cuatro por ciento aproximadamente con relación a la técnica de cámaras respiratorias. En cuanto a la confiabilidad de la tasa de permeación, Ulyatt *et al.* (1999) realizaron un estudio durante 235 días de calibración de las capsulas de permeación y la tasa de permeación presentó una variación del 20% de su tasa inicial (1 mg vs 0.8 mg). Por lo que recomiendan que es necesario recolectar las cápsulas de permeación al finalizar el ensayo con la finalidad de evaluar este variable. Por su parte, Ramírez- Restrepo *et al.* (2015) manifiestan que los resultados obtenidos de emisión de CH<sub>4</sub> con la técnica del gas trazador SF<sub>6</sub> proporciona resultados similares (IC 95% = 24.46; 24.94 g CH<sub>4</sub>/Kg MS que cuando se miden con cámaras respiratorias (IC95% = 23.4; 24.0 g CH<sub>4</sub>/Kg MS), respectivamente.

La cápsula de permeación para vacunos en un tubo cilíndrico de bronce de aproximadamente 45 mm longitud con rosca Swagelok<sup>®</sup> de 9.5 mm en uno de sus extremo y cerrado en el otro mediante una membrana permeable (Teflón<sup>®</sup>) recubierta por una micro-rejilla de acero inoxidable (Lassey *et al.* 2001). La cápsula de permeación es cargada con 2.2 a 2.8 g del gas trazador SF<sub>6</sub> aproximadamente. Luego, se debe determinar su tasa de liberación individual mediante una ecuación de regresión lineal (masa vs tiempo,  $r^2 = 0.9995$ ) (Berndt *et al.* 2014), para ello, las cápsulas son mantenidas en una estufa a 39°C simulando la temperatura del

rumen (Lassey *et al.* 2001), pesadas una a dos veces por semana, durante 6 a 10 semanas (Berndt *et al.* 2014). La tasa de liberación está definida por el espesor membrana permeable (Teflón<sup>®</sup>) y la temperatura de almacenamiento (Lassey *et al.* 2011), dentro del rango de 3 a 7 mg SF<sub>6</sub> por día (Berndt *et al.* 2014). Una vez determinada la tasa de liberación individual, se debe de dosificar a cada animal por lo menos 7 días antes de empezar la toma de muestras con la finalidad de adaptar las cápsulas al ambiente ruminal (Lassey *et al.* 2011). Vlaming (2008) recomienda que se utilicen las cápsulas con la mayor tasa de liberación debido al efecto que ejerce la presión ruminal sobre el comportamiento de la cápsula de permeación. Mientras que, Pinares-Patiño *et al.* (2008) recomiendan utilizar cápsulas con tasas de liberación similares entre los tratamientos para garantizar la precisión de la técnica.

- **Número de animales y días de medición**, para utilizar la técnica de trazador hexafluoruro de azufre es necesario establecer correctamente el número adecuado de animales y días de medición que permitan encontrar diferencias significativas entre los tratamientos (Berndt *et al.* 2014), porque esta técnica presenta una mayor variabilidad de sus datos con respecto a las mediciones realizadas con cámaras respiratorias (IPCC 2007) debido a que los datos son tomados de animales bajo condiciones de pastoreo donde el efecto ambiente refleja las variaciones reales de consumo diario y por ende las emisiones varían. Berndt *et al.* (2014) realizaron un estudio de simulación con los datos obtenidos por Vlaming (2008), donde realizaron la interacción entre el número de animales por tratamiento y el número de días de medición por animal (mil simulaciones) para detectar el número de ocasiones en las que se obtenía diferencias significativas entre dos grupos y determinaron que para un escenario con 82% de probabilidad de hallar diferencias significativas entre dos grupos, se requiere utilizar 10 animales y 7 días de medición, pero si se utiliza 12 animales solo se requieren 3 días de medición.

**Cuadro 1: Métodos de estimación directa de la emisión de metano de los rumiantes.**

| Método  | Descripción  | Precisión  | Referencia   |
|---|--|--|--|
| 2.5.1. Métodos de estimación directa con periodos cortos de mediciones  |  |  |  |
| <p>Sistema Greenfeed</p>                   | <p>Dispositivo patentado que mide y registra las emisiones individuales de CH<sub>4</sub> a corto plazo (3-7 min) del ganado durante 24 h atrayendo a los animales a la unidad utilizando un alimento o "cebo".</p>                              | <p>Adecuado para comparar los efectos de alimentos o suplementos.</p>  | <p>Zimmerman <i>et al.</i> (2013)<br/>Fernández <i>et al.</i> (2012)</p> |
| <p>Cámaras de acumulación portátiles</p>  | <p>Caja de policarbonato transparente en la que se coloca el animal durante aproximadamente 1 h; la producción de metano se mide por el aumento en la concentración que ocurre durante ese tiempo que el animal está encerrado en la cámara.</p> | <p>Diseñado para medir grandes cantidades de animales para la selección genética en base a la producción relativa de metano.</p> | <p>Goopy <i>et al.</i> (2011),<br/>Robinson <i>et al.</i> (2015)</p>     |



2.5.2. Métodos de estimación directa con periodos largos de mediciones

Cámaras de respiración de circuito abierto



Mide la concentración de  $\text{CH}_4$  dentro de la cámara de respiración mediante el flujo del aire que ingresa y el aire que sale juntamente con el  $\text{CH}_4$  exhalado, mientras el animal está encerrado.

No es adecuado para examinar los efectos del manejo del pastoreo. Restringe el comportamiento y el movimiento normal de los animales; puede disminuir la ingesta de alimento. Solo se pueden usar unos pocos animales para medir a la vez.

Goopy *et al.* (2016)



Trazador hexafluoruro de azufre ( $\text{SF}_6$ )



Se coloca un pequeño tubo de permeación que contiene  $\text{SF}_6$  en el rumen del animal, Se mide las concentraciones de  $\text{SF}_6$  y  $\text{CH}_4$  cerca de la boca y las fosas nasales de la vaca.

Permite que el animal se mueva libremente. Adecuado para sistemas de pastoreo. Se puede usar para medir individualmente grandes cantidades de animales.

Goopy *et al.* (2016)

|   |  |   |  |
|---|--|---|--|
| <p>Sistema de campana ventilada</p>  | <p>Se coloca una caja hermética para rodear la cabeza del animal. El flujo de CH<sub>4</sub> se mide solo desde la cabeza en lugar de todo el cuerpo.</p>  | <p>Se puede utilizar para evaluar las emisiones de diferentes alimentos.<br/>         Restringe el comportamiento y el movimiento normal de los animales; no apto para sistemas de pastoreo</p>   | <p>Fernández <i>et al.</i> (2012)<br/>         Place <i>et al.</i> (2011)<br/>         Suzuki <i>et al.</i> (2007)<br/>         Goopy <i>et al.</i> (2016)</p> |
| <p>El sistema del Politúnel</p>     | <p>Un gran túnel de polietileno, equipado con paredes finales y puertos de gran diámetro. Los flujos de aire (incluido el CH<sub>4</sub>) entre el aire entrante y saliente se controlan continuamente y por diferencia se determina las concentraciones de CH<sub>4</sub></p> | <p>Adecuado para medir emisiones de CH<sub>4</sub> en condiciones de pastoreo semi-normales.<br/>         Se puede utilizar para grupos individuales o pequeños de animales. Al igual que con las cámaras y SF<sub>6</sub>, no mide el consumo de alimento.</p> | <p>Goopy <i>et al.</i> (2016)</p>  |

El láser de trayectoria abierta



Los láseres y las redes inalámbricas de sensores envían haces de luz a través de potreros que contienen a los animales pastoreando. La luz reflejada se analiza para determinar las concentraciones de gases de efecto invernadero.

Mide las emisiones de CH<sub>4</sub> de los rebaños de animales y facilita las mediciones de toda la granja en varios pastos. Las emisiones no pueden atribuirse a una sola fuente.

Goopy *et al.* (2016)  
Tomkins *et al.* (2011)  
Flesch *et al.* (2004, 2005)  
Loh *et al.* (2008)

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 LOCALIZACIÓN DEL ESTUDIO

El presente estudio fue conducido en el Centro de Investigación y Producción Tulumayo Anexos La Divisoria - Puerto Súngaro (CIPTALDS) perteneciente a la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS) ubicada en el distrito José Crespo y Castillo, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco, zona con características del ecosistema de Selva Alta de la región Huánuco, considerada como bosque muy húmedo-premontano tropical (bmh-PT). Presenta una altitud de 628 m.s.n.m., ubicada geográficamente a 09° 08' 49.40" latitud sur y 76° 00' 33.97" longitud oeste.

El estudio se llevó a cabo de enero a noviembre del 2017. La colección de gases fue realizada del 3 al 11 de mayo que corresponde al periodo final de la mayor precipitación pluvial y del 21 al 29 de septiembre correspondiente al periodo final de la menor precipitación pluvial. Los datos meteorológicos son mostrados en el cuadro 2 y anexo 1. El estudio se realizó de conformidad con la Ley de Protección y Bienestar Animal de Perú, No. 30407.

**Cuadro 2: Características meteorológicas promedio durante los dos periodos experimentales.**

| Periodo de:                                   | Pp. pluvial <sup>1</sup><br>(mm) | Temperatura ambiental (°C) |        |          | HR<br>(%) |
|---|----------------------------------|----------------------------|--------|----------|-----------|
|   |                                  | Máximo                     | Mínimo | Promedio |           |
| Mayor precipitación (mayo <sup>2</sup> )      | 208.5                            | 30.8                       | 21.0   | 25.9     | 81.7      |
| Menor precipitación (setiembre <sup>3</sup> ) | 166.7                            | 31.6                       | 20.2   | 25.9     | 80.4      |

**FUENTE:** Estación Tulumayo – SENAMHI, 2017.

<sup>1</sup>Representan la precipitación pluvial mensual acumulada para el mes en estudio durante el año 2017 (la precipitación pluvial anual acumulada para el año 2017 fue de 2987.1 mm).

<sup>2</sup>Corresponde al último mes del periodo de mayor precipitación pluvial.

<sup>3</sup>Corresponde al último mes del periodo de mayor precipitación pluvial. Pp. Precipitación; HR, humedad relativa.

### 3.2 ANIMALES Y ALIMENTACIÓN

Se utilizaron 14 toretes de la raza Brahman, seleccionados a partir de una población de 232 animales, procedentes del Centro de Producción e Investigación Tulumayo Anexo Divisoria - Puerto Súngaro (CIPTALP - PS) de la Universidad Nacional Agraria de la Selva. Los toretes seleccionados fueron utilizados en ambos periodos del presente estudio. La edad y peso vivo promedio inicial de los animales para el estudio conducido durante el periodo de mayor precipitación fue de 15 meses y  $279.9 \pm 17.9$  kg. Mientras que para el periodo de menor precipitación fue de 18 meses de edad y  $352.4 \pm 18.2$  kg. Las características de los animales experimentales para ambos periodos de estudio se detallan en el anexo 2. La alimentación de los toretes fue en base a una mezcla de pasturas tropicales de gramíneas y leguminosas fertilizadas simulando las condiciones normales de los pastos tropicales de la selva peruana. Así mismo, los animales fueron suplementados con una mezcla de sales en una proporción de dos partes de sal común por una parte de sales minerales.

### 3.3 PASTURAS

La pastura utilizada en el presente estudio fue una mezcla de especies tropicales entre gramíneas y leguminosas con predominancia del pasto alemán *Echinochloa polystachya* (Kunth) Hitch. y en menor proporción por la gramínea natural Torourco *Paspalum conjugatum* (P.J. Bergius) Roxb.; y las leguminosas Kudzú *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth. y Calopo *Calopogonium mucunoides* Desv. El pasto alemán fue establecido aproximadamente hace 15 años. Las características con relación a las proporciones de cada especie en la mezcla, composición botánica, estructura de las plantas durante los dos periodos experimentales son mostrados en detalle en los anexos 3 y 4, respectivamente.

El manejo de la pastura durante la etapa experimental de cada periodo en estudio se realizó en un potrero de 1.5 hectáreas bajo un sistema de pastoreo rotacional de 9 días de ocupación y 45 días de descanso. Luego, los animales fueron trasladados a un potrero adyacente de 12 hectáreas con características similares en cuanto a tipo de pastura y manejo (fertilización), donde permanecían durante 45 días, bajo un sistema de pastoreo extensivo diferido. Los animales durante los 9 días de ocupación del potrero en la etapa experimental del estudio tanto para el periodo de mayor y menor precipitación permanecieron durante 21 horas diarias. Las 3 horas restantes (12:00 m. a 3.00 pm), eran movilizadas al corral de manejo

para realizar los trabajos correspondientes a dosificación de los marcadores externos, toma de muestras de heces y muestras para cuantificar metano entérico. La carga animal instantánea (densidad) utilizada en la pastura en estudio fue de 6.5 UA/ha en el periodo de mayor precipitación y de 7.8 UA/ha para el periodo de menor precipitación, y la carga animal fue de 1.7 UA/ha en el periodo de mayor precipitación y de 2.8 UA/ha para el periodo de menor precipitación. Mientras que la capacidad de carga fue de 2.6 UA/ha en el periodo de mayor precipitación y de 2.2 UA/ha en el periodo de menor precipitación, considerándose la Unidad Animal un peso de 450 kg de PV. Las relaciones entre animal/área y forraje/animal fueron calculados de acuerdo con las fórmulas descritas por Scarnecchia y Kothman (1982); Flores (1992). Las fórmulas y sus respectivos cálculos se presentan en el anexo 4. La pastura después del periodo de ocupación en cada etapa experimental fue sometida a labores culturales (corte de uniformización y fertilización nitrogenada). La frecuencia de fertilización se realizó después de cada ciclo de pastoreo de 54 días (9 de ocupación y 45 de descanso), para lo cual se utilizó dosis de mantenimiento de 50 kg/ha de nitrógeno/ ciclo de pastoreo, de acuerdo con las recomendaciones de la Red Internacional de Evaluación de Pastos Tropicales, RIEPT– CIAT (Mendoza y Lascano 1986). La fuente de nitrógeno (N) fue urea agrícola (46% N) que equivale a una dosis de 110 kg urea/ha/ciclo de pastoreo.

### **3.4 EVALUACIONES EN LA PASTURA**

Para determinar la emisión de metano entérico generadas por toretes a partir del pastoreo rotativo de una pastura tropical durante el periodo de mayor y menor precipitación del ecosistema de selva alta fue necesario realizar evaluaciones en la pastura, los cuales sirvieron de soporte para poder expresar la emisión, la intensidad y el rendimiento del CH<sub>4</sub> entérico. En ese sentido, el muestreo de la pastura fue realizado a nivel de pastura ofertada y pastura seleccionada durante la fase experimental de cada periodo en estudio.

El muestreo a nivel de la pastura ofertada fue determinado mediante la técnica de zigzag y puntos de muestreo (Melgarejo 2017) utilizando el método de muestreo sistemático destructivo (Mannetje 1978) o conocido también como método de corte y separación manual por especies y partes (ASRM 1962) para lo cual se utilizó un cuadrante o marco metálico de 1 m x 1 m (Hargreaves y Kerr 1992). Las muestras obtenidas mediante este método fueron utilizadas para calcular la biomasa total disponible u oferta de forraje de la pastura.

El cuanto el muestreo de la pastura seleccionada fue realizado utilizando el método de simulación manual (Austin *et al.* 1983). Los días de muestreo dentro de cada periodo experimental (lluviosa y seca) fueron siete días (8, 9, 10, 11, 12, 13 y 14). Para lo cual, se seleccionaron aleatoriamente tres toretes por cada día. La colección de muestras por simulación manual consistió en realizar observaciones individualizadas del animal cerca al área que se encontraba pastoreando durante el pastoreo por un periodo de 2-3 horas. Se colectaron un total de 60 muestras por día, a partir de las estaciones alimentarias (20 por cada torete/día). Las estaciones alimentarias se definió como el semicírculo en frente del animal dentro del cual el animal cosecha el forraje cada vez que se detiene a comer (Flores 1993). Las 60 muestras colectadas diariamente de la pastura seleccionada fueron juntadas en una muestra compuesta por cada día y pesadas en fresco, la cual a su vez fue separada en dos muestras de aproximadamente 1000 g, las cuales fueron utilizadas para determinar: composición botánica y partes de las plantas. Así mismo, fueron utilizadas para determinar la calidad nutritiva de la pastura y producción de metano *in vitro*.

### **3.4.1 Biomasa total disponible, composición botánica y partes de la planta**

#### **a. Biomasa disponible**

La biomasa total disponible u oferta de forraje, fue determinada tanto para la biomasa total al pre-pastoreo (ofrecido) y al pos-pastoreo (remanente), para lo cual, todo el material vegetal fueron cortadas en ambos casos a 5 cm de la superficie del suelo utilizando una tijera podadora de forraje, evitando la contaminación de estas con partículas de suelo y cada una pesada individualmente. El mismo procedimiento se realizó en el pos-pastoreo para determinar la biomasa remanente. La disponibilidad de biomasa acumulada (tasa de rebrote) no fue considerada atendiendo la recomendación de Mendoza y Lascano (1986), debido al tiempo de toma de muestra entre pre y pos-pastoreo fue realizada cada 24 horas (menor de tres días). Se colectaron 10 muestras diarias y fueron pesadas individualmente.

#### **b. Composición botánica y partes de la planta en la pastura seleccionada**

La composición botánica y partes de las plantas de la pastura seleccionada, fue determinada a partir de una de las muestras compuestas y expresadas en términos de las especies presentes (pastura mejorada, pastura natural y leguminosas), grupo funcional (gramínea, leguminosas), partes plantas, (tallo, hoja), relación material verde/senescente (material verde y senescente). Luego, fueron secadas en una estufa a 60 °C por 48 horas para ser expresados en términos relativos al peso seco y almacenadas hasta su análisis respectivo.

### **3.4.2 Calidad nutritiva pastura seleccionada**

#### **a. Composición química y energía bruta**

La composición química y energía bruta de la pastura seleccionada fueron analizadas a nivel de especies presentes (pastura mejorada, pastura natural y leguminosas), así como, por partes de la planta (hoja, tallo) y material senescente, respectivamente. Los análisis realizados fueron:

- Análisis químico fueron determinados en el Laboratorio de Nutrición Animal y Bioquímica de la Facultad de Zootecnia – Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS) las siguientes fracciones: Contenido de Materia Seca (MS) (AOAC, 2006, método 930,15), Ceniza (Cz) (AOAC, 2006, método 942,05), Proteína Cruda (PC) por el método de semi microKjeldahl (AOAC, 2006, método 920,87).

- Contenidos de los constituyentes celulares fueron analizados en el Laboratorio de Fibras de la Facultad de Zootecnia – UNALM. 2) el contenido de Fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente acida (FDA) de acuerdo con el método de Mertens (2002) y Van Soest y Robertson (1985), respectivamente, utilizando la tecnología Ankom (Fiber analyzer 200, Ankom Technology Corporation, Fairport, N.Y.) a partir de muestras digeridas en solución de detergente en bolsas de filtro (F57 - Ankom®) durante 40 min en una autoclave a 110 °C y 0,5 atm (Senger *et al.* 2008).

- Energía bruta fue determinada en el Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos (LENA) de la Facultad de Zootecnia – UNALM, por calorimetría de bomba adiabática (Parr Instrument Company 6300, Illinois, EE. UU.) empleando el método ASTM D-2015-66 (ASTM 1974).

#### **b. Digestibilidad *in vitro***

La digestibilidad verdadera *in vitro* de la materia seca y de la materia orgánica fueron determinadas en el Laboratorio de Fibras de la Facultad de Zootecnia – UNALM de acuerdo con la metodología descrita por Senger *et al.* (2008), utilizando la tecnología Ankom (Daisy II® Incubator, Ankom Technology Corporation, Fairport, N.Y.) a partir de muestras (0.5 g) obtenidas por simulación manual, incubadas por 48 horas y a una temperatura constante de 39.2 ± 0.5°C) y una agitación circular constante. Se empleó soluciones tampón A y B, en una relación 5: 1 y un pH final de 6,8 a 39 ° C, según las recomendaciones de Göering y Van



Soest (1970). El detalle de su composición está descrito en el anexo 5. Así mismo, el inóculo ruminal se recolectó de tres ovinos machos de la raza Junín fistulados al rumen, con peso vivo promedio de 50 kg y alimentados con forraje de King grass enano *Pennisetum purpureum* cv. Mott con 12% de proteína cruda (PC), 65% fibra detergente neutra (FDN), 35% fibra detergente ácida y (DAIVMO) de 62 %. Se utilizó una proporción solución medio de cultivo – inóculo ruminal de 4:1. Para la determinación de la digestibilidad *in vitro* verdadera de la materia seca (DIVVMS), después de enjuagar las bolsas en agua fueron colocadas en el analizador de fibra (Fiber analyzer 200, Ankom) y se sigue el procedimiento similar a la determinación para la FDN.

$$\text{DIVVMS (\%, en base MS)} = \frac{100 - (W3 - (W1 \times C1))}{(W2 \times S)} \times 100$$

Donde:

DIVVMS = digestibilidad *in vitro* verdadera de la materia seca

W1 = Peso de bolsa vacía

W2 = Peso de la muestra

W3 = Peso final de la bolsa después del procedimiento de incubación *in vitro*

C1 = Factor de corrección de la bolsa blanco (relación del peso entre peso final después de ser secado a la estufa/ peso original de la bolsa blanco)

MS = Contenido de materia seca de la muestra

### c. Producción *in vitro* de gases

La producción *in vitro* de gases fueron calculados como producción neta de gases corregido (PNGC) y producción de metano *in vitro* (PMIV) y fueron determinadas en los laboratorios de Instituto de Ciencias Agrícolas en los Trópicos (Instituto Hans-Ruthenberg), Unidad de Nutrición Animal y Manejo de Pastizales en los Trópicos y Subtrópicos (490i) de la Universidad de Hohenheim – Alemania, mediante la prueba de gases de Hohenheim (Hohenheim Gas Test) descrito por Menke y Steingass (1988).

La PNGC fue calculado a partir de la medición del volumen de gas producido en un periodo de 24 horas de incubación de 200 mg de muestra seleccionada (obtenida por simulación manual) en una mezcla de licor ruminal más un medio de cultivo reducido, gaseado constantemente con CO<sub>2</sub>, y mantenidos a una temperatura constante de 39.0°C ± 0.5 con ayuda de un equipo de baño María, según lo descrito por Menke *et al.* (1979). El volumen de gas resultante de 24 horas de incubación fue comparado con dos estándares, uno de los

cuales fue heno molido de una mezcla gramíneas de clima templado, y el otro estándar fue un concentrado de granos, con producción de gas conocida (49.16 y 61.13 ml/200mg MS). La producción de metano *in vitro* fue calculada siguiendo el procedimiento descrito por Close y Menke (1986) a partir del volumen de gas colectado después del periodo de incubación por 24 horas de la muestra (200 mg). El cálculo de la producción de metano se realizó por regla de tres simple. Para lo cual, con ayuda de un analizador de CH<sub>4</sub> calibrado con un estándar de metano de concentración conocida (12.1%), que equivale a 40.0 ± 0.2 voltios., por lo tanto, si el volumen de gas corregido de una determinada muestra reporta 43.3 voltios, eso equivaldría a 13% de metano.

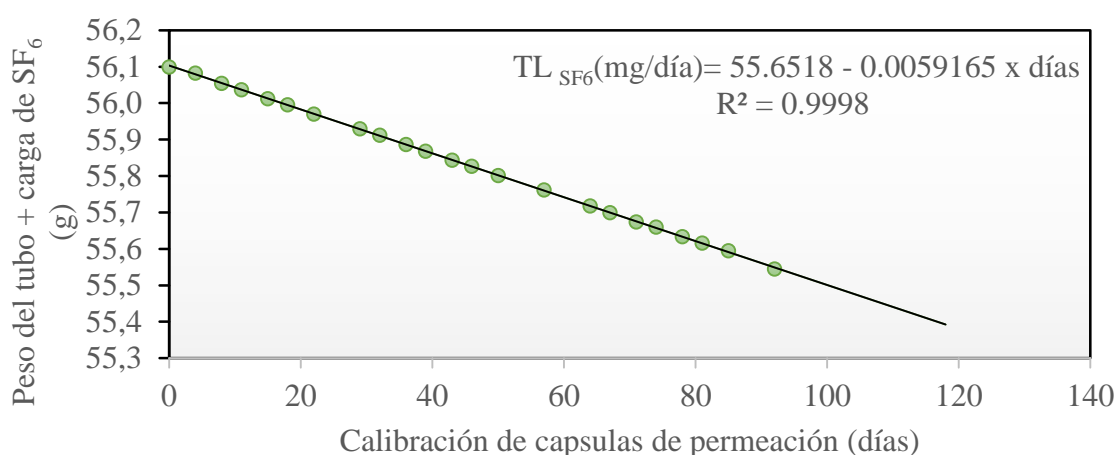
### **3.5 DETERMINACIÓN DE LA EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO UTILIZANDO LA TÉCNICA DEL TRAZADOR HEXAFLUORURO DE AZUFRE**

Para calcular la emisión de CH<sub>4</sub> entérico durante los dos periodos de estudio (mayor y menor precipitación), se utilizó la técnica del trazador hexafluoruro de azufre (SF<sub>6</sub>), la misma que fue adaptada a las condiciones de selva del Perú. En ese sentido, se contempló las recomendaciones de Berndt *et al.* (2014) en lo referente al número de animales y días de medición, para lo cual, nos fijamos un escenario con 82% de probabilidad de hallar diferencias significativas entre los dos periodos de estudio utilizar 12 animales y 9 días de medición. El estudio fue conducido durante un periodo de 16 días y separado en dos etapas o fases (pre - experimental y experimental). La fase pre - experimental fue de 7 días en la cual se realizaron las siguientes actividades: Selección aleatoria de 7 animales para cada marcador externo (óxido crómico y dióxido de titanio); inicio de la dosificación con los marcadores externos, acostumbramiento y puesta a punto de las jáquimas, cánisters, y líneas de flujo, así como al manejo del ensayo. La fase experimental duró 9 días en la cual se realizaron las siguientes actividades: Dosificación con los marcadores externos, toma de muestra de heces, toma de muestras de gases y el manejo en general del ensayo.

#### **3.5.1 Acondicionamiento de la técnica y materiales al lugar del estudio**

a. **Calibración y dosificación de las cápsulas de permeación**, las cápsulas de permeación son una barra de bronce que posee una cavidad en la que contiene el gas SF<sub>6</sub>. Fueron elaboradas en el Swift-Current Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada de la Universidad de Saskatchewan, Saskatchewan-Canadá. Las

cápsulas fueron calibradas en la zona experimental por un período de 19 semanas con ayuda de una estufa marca Memmert modelo UF75 con aire forzado a 39°C y velocidad del aire circulante de 10 cc/min. El pesaje de las cápsulas se realizó dos veces por semana durante las primeras 6 y una vez por semana en el tiempo restante, a la misma hora (2 p.m.) en una balanza analítica con cabina marca Cole-Pamer modelo Symmetry PA220 con capacidad mayor de 220 gramos y una sensibilidad de 0.0001 g. La tasa de liberación y la vida útil de cada capsula de permeación fueron estimadas mediante una ecuación de regresión lineal (masa vs. tiempo) utilizando los valores obtenidos de pérdidas de peso y ajustadas a un  $r^2$  mínimo de 0.9995, de acuerdo con las recomendaciones de Berndt *et al.* (2014) (Figura 5).

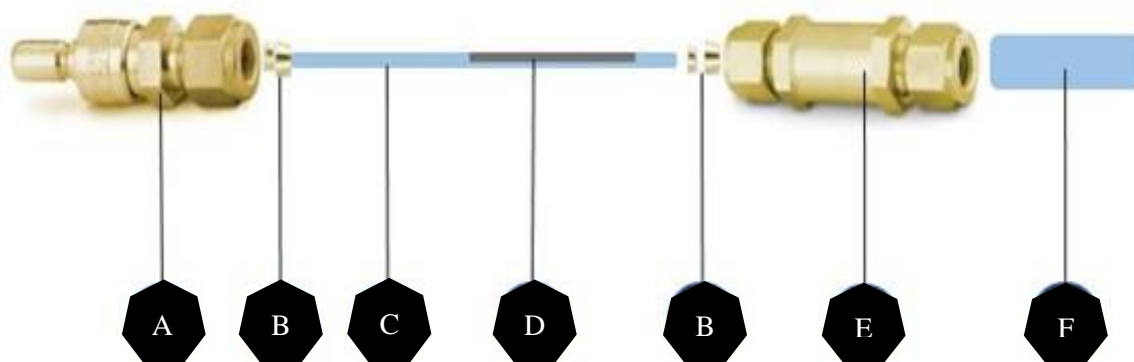


**Figura 5: Regresión del peso de la capsula cargada con SF<sub>6</sub> versus los días de calibración para determinar la tasa de liberación (TL; SF<sub>6</sub> mg/día) de las capsulas**

Las características de las 12 cápsulas calibradas se detallan en el Anexo 14. La dosificación de las cápsulas de permeación se llevó a cabo en un mismo día e inicio a las 2:00 pm del mes de mayo del 2017, una semana antes del inicio del experimento (toma de gases) con la finalidad de procurar una estabilización de la concentración de SF<sub>6</sub> en el rumen y fue de forma aleatoria con ayuda de una lanza bolos para vacunos, de acuerdo con las recomendaciones de Deighton *et al.* (2014). Los animales estuvieron en observación en el corral de manejo por un periodo de dos horas para detectar posibles regurgitaciones.

**b. Confección y calibración de la línea de flujo**, la línea de flujo es el elemento del sistema encargada de asegurar la colección de muestra a una tasa constante durante todo el período de medición (24 horas), de tal manera de que el yugo quede lleno a un promedio de 35 por ciento de su capacidad (20 – 50 %). Se encuentran sujetas a las jáquimas y son las

encargadas de captar y trasladar las muestras de gases emitidos por el animal. El elemento que permite mantener un flujo constante de muestreo de la línea de flujo es el tubo capilar de cromatografía de 0.005” ID, 1/16 OD y en el modelo original descrito por Johnson y Johnson (1995) constituye toda la longitud de la línea de flujo. Se utilizó un tubo capilar de cromatografía de 5 cm de longitud (SS Tubing de 0.005” ID, 1/16<sup>TM</sup> OD, marca SUPELCO<sup>o</sup> Solutions Whiting<sup>®</sup>) y fue adaptado el resto de la longitud de la línea con una manguera de Nylon de 1/8” (Figura 6). Los elementos que se usaron para la construcción de las líneas de flujo se basaron en la sugerencia por Berndt *et al.* (2014). Se utilizó elementos de conexión rápida Swagelok<sup>®</sup> para la línea de colección de gases y elementos de ajuste para la generación de vacío y toma de muestra.



**Figura 6: Componentes de la línea de colección de muestras de gases.**

- A. Conector macho o Espiga enchufe rápido instrumentación con válvula (Código: B-QC4-D-200, Marca: Swagelok<sup>®</sup>);
- B. Férulas de latón 1/8” (OD) (Código: B-200-SET, Marca: Swagelok<sup>®</sup>);
- C. Manguera de Nylon de 1/8” (Código: NYBG-0108, Marca: Griflex);
- D. Tubo capilar de cromatografía (SS Tubing de 0.005” ID, 1/16<sup>TM</sup> OD, 5 cm L, Marca: SUPELCO<sup>o</sup> Solutions Whiting<sup>®</sup>);
- E. Filtro de partículas en línea de bronce, 1/8”, tamaño de poro: 15 µm (Código: B-2F-15, Marca: Swagelok<sup>®</sup>);
- F. Manguera de silicona de 5 mm diámetro interno (grado médico).

La regulación del nivel de restricción está dada por la constricción de este, para lo cual, el capilar fue apretando en una zona específica hasta lograr un flujo promedio de 0.753 cc/min (0.726 – 0.759) con nitrógeno ultra puro a una presión de + 800 mbar, que permitió obtener alrededor de - 400 mbar de presión diferencial en el cánisters al final de un período de 24

horas de muestreo. La calibración de capilar fue realizada con un flujómetro, marca Cole-Parmer, modelo CP-32908-53 (anexo 15 y 16). Todas las líneas de flujo fueron probadas en laboratorio, línea fuera del rango de llenado de 20 – 50 %, fue descartado (Figura 7).



**Figura 7: Calibración de Líneas de flujo**

**c. Confección y calibración de los cánisters**, los cánisters son contenedores donde se colectan las muestras eructadas y exhaladas por los animales. El modelo original descrito por Johnson y Johnson (1995) fue una esfera de acero inoxidable de un litro. Para el presente estudio se adaptó y confeccionó a partir de tubos de PVC fue el modelo tipo yugo o “V” invertida, siendo el volumen utilizado en vacunos de 2.042 litros (Lassey *et al.* 1997; Ulyatt *et al.* 1999).

Para confeccionar los cánisters se adaptaron y emplearon tubos, codos y tapas de 2” para agua de PVC de alta presión clase 10, que fueron moldeados a la forma de yugo después de ser calentados en una estufa a 120 °C por 5 min. Luego de pegar cada pieza se realizó un orificio con una broca de 11mm y su respectiva rosca con una terraja macho NTP de ½”, se procedió a ensamblar el codo, conector hembra más cinta teflón al orificio del cánisters. Finalmente, los cánisters ensamblados son sometidos a un proceso limpieza de su interior, para lo cual son “inyectados” con nitrógeno de alta pureza (450 mbar) en un número de cuatro veces y por cuatro tiempos (Figura 8).



**Figura 8: Componentes del cánisters para colección de muestras de gases**

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

Para el proceso de calibración de los cánisters, en primer término, fueron sometidos a un proceso de generación de vacío con la ayuda de una bomba de vacío de doble etapa marca CPS, modelo VP12D. Luego se midió la presión con un manómetro diferencial digital marca Control C, código 3462, con un rango presión de -30 a + 30 psi, resolución 0.02 psi. La presión diferencial en el CIPTALDS para una altitud de 628 m.s.n.m fue de -932 mbar (periodo de mayor precipitación) y -929 mbar (periodo de menor precipitación) y su tasa de perdida promedio después de 72 horas fueron de 2.2 y 1.9% (Figura 9, Anexo 17 y 18).



**Figura 9: Calibración del cánisters para colección de muestras de gases**

**d. Adaptación de los animales experimentales,** el período de adaptación tuvo una duración de 21 días para cada periodo, donde los 14 toretes Brahman fueron seleccionados al azar y acostumbradas al uso de las jáquimas y cánisters, así como al manejo del ensayo. Así mismo, antes del inicio del ensayo correspondiente al periodo de mayor precipitación (mayo) se dosificaron al azar a 12 animales con las capsulas de permeación y los otros 2 animales servirían para transportar las líneas y cánisters considerados como “blancos ambientales”. En el periodo de menor precipitación no se realizó esta actividad porque fueron los mismos animales los que se utilizaron para la determinación de la emisión de metano entérico.



**Figura 10: Adaptación de los animales experimentales**

### 3.5.2 Toma de muestra y análisis de gases

**a. Toma de muestras de gases**, para la toma de muestras de gases se trabajó con 34 cánisters y 24 líneas de flujo calibradas y se realizó de la siguiente manera: Cada día de la fase experimental a las 18.00 horas los cánisters fueron limpiados en el laboratorio con nitrógeno ultra puro para remover los gases residuales (450 mbar, 2 veces por cada cánisters), luego, se generaba vacío durante 3 minutos por cánisters con ayuda bomba de vacío de doble etapa marca CPS, modelo VP12D, tiempo probado con el cual se lograba un vacío total de -932 mbar (periodo de mayor precipitación) -928 mbar (periodo de menor precipitación) de presión diferencial, respectivamente. Al día siguiente a las 13:00 horas se trasladaban los cánisters al corral de manejo para ser colocados al azar en los animales (14:00 p.m.) previo retiro de los cánisters con muestra del día anterior (24 horas de colecta). Las presiones de los cánisters eran registradas como presión de entrada (0 horas) y presión de salida (24 horas) para cada uno. Dado que las líneas de flujo fueron calibradas para un llenado promedio de 35 % [20 a 50%] de la capacidad del cánisters, cualquier presión final fuera de este rango generaba el descarte de la muestra. Es así, que para el periodo de mayor precipitación se tuvo en cuenta valores entre -466 a -746 mbar, y para el periodo de menor precipitación, entre -464 a -742 mbar, respectivamente, por lo tanto, valores por debajo de -464 mbar indicaban posibles fugas y valores por encima de -746 eran indicadores de posibles obstrucciones del sistema.

**b. Toma de submuestras y transferencia a viales**, en el laboratorio los cánisters fueron presurizados a +1010 mbar con nitrógeno ultra puro y se dejó estabilizar por 3 horas. Durante ese periodo de estabilización de los cánisters, fueron preparados los viales de cromatografía (Perkin Elmer® de 22 ml volumen) para el posterior sub-muestreo. Los viales fueron ensamblados con septas de butilo y tapas de aluminio con ayuda de un crimpador automático Perkin Elmer® de 20 mm. Luego, mediante un sistema de vacío para viales acoplado a una bomba CPS, modelo VP12D fueron sometidos a un despresurizados por 5 minutos. Para comprobar la calidad del vial (sellado, hermeticidad y vacío) del vial se realizaba una prueba aleatoria a 2 viales, los cuales se sumergían en agua y se les insertaba una aguja. Si el vacío era bueno, el vial se llenaba con agua sobrepasando el cuello del vial, de no ser el caso, el lote de viales presurizados era descartados. Los viales que pasaban la prueba eran debidamente codificados.



El sub-muestreo se realizaba con apoyo de una línea de muestreo y una jeringa de 50 ml. La línea de muestreo era una manguera de nylon de 1/4" DI x 30 cm de longitud, donde extremo tenía un conector macho Swagelok® (B-QC4-D-200) y el otro extremo una unión Swagelok® de 1/4 a 3/8" (B-600-1-4) y en el interior de la manguera estaba llena de silicagel cuya función era retener la posible humedad ambiental. El sub-muestreo consistía en transferir los gases colectados desde los cánisters a los viales, para lo cual, se eliminaban las dos primeras tomas con la finalidad de tomar una muestra más homogénea y a la vez servía para realizar la limpieza de la línea de muestreo y de la jeringa entre cánisters evitando una contaminación cruzada. Se tomaron dos sub-muestras por cánisters por día. Finalmente, todos los viales con muestras fueron refrigerados a 4°C durante el período de colección para luego ser trasladadas vía aérea hasta el laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina para su posterior análisis por cromatografía de gases.

### **c. Análisis de metano y hexafluoruro de azufre**

Las concentraciones de CH<sub>4</sub> y SF<sub>6</sub> fueron determinadas por cromatografía gaseosa en el Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Zootecnia de la UNALM, mediante la inyección manual de las muestras (0.6 ml) a un cromatógrafo de gases marca Agilent modelo 7890B GC (Agilent Technologies, 2010). 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 CH<sub>4</sub> se realizó con un detector de ionización de flama (FID) de la marca Agilent technologies, con una sensibilidad ≤ 1.4 pico gramos. La temperatura del detector fue de 250°C utilizándose helio como gas portador (10 ml/min), hidrógeno como gas combustible (40 ml/min) y aire como gas oxidante (350 ml/min). La medición de SF<sub>6</sub> 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-Martin Inc.) de concentración conocida, 48.7 ppm de CH<sub>4</sub> y 237.9 ppt de SF<sub>6</sub>. El tiempo de retención del CH<sub>4</sub> y SF<sub>6</sub> fue de 1.5 y 2.9 minutos respectivamente. Se analizaron las muestras por duplicado.

### 3.5.3 Emisión de metano entéricos y formas de expresión

#### a. Emisión de metano entérico por animal

La emisión de metano entérico se calculó utilizando la tasa de liberación de la cápsula de SF<sub>6</sub> y los resultados obtenidos de la concentración de CH<sub>4</sub> y SF<sub>6</sub>, para lo cual utilizamos el modelo propuesto por Johnson y Johnson (1995) y la guía elaborada por Berndt *et al.* (2014) quienes proponen la siguiente ecuación de cálculo:

$$\text{CH}_4 \text{ (g/d)} = \text{TL SF}_6 \text{ (g/d)} \times [\text{CH}_4]/[\text{SF}_6]$$

Dónde:

TL SF<sub>6</sub>= tasa de liberación de SF<sub>6</sub> de la cápsula,

[CH<sub>4</sub>] = concentración de este gas en ppm por encima de las concentraciones atmosféricas.

[SF<sub>6</sub>] = concentración de este gas en ppt por encima de las concentraciones atmosféricas.

Además, las concentraciones de CH<sub>4</sub> y SF<sub>6</sub> fueron corregidas con las presiones después de la toma de muestra y luego de presurizar con Nitrógeno (N<sub>2</sub>) de acuerdo con las modificaciones a la metodología propuesta por Deighton *et al.* (2014) que proponen la siguiente ecuación:

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

Donde:

[Gas corregida] = Concentración de CH<sub>4</sub> y SF<sub>6</sub> corregida

[Gas crom] = Concentración de CH<sub>4</sub> y SF<sub>6</sub> proveniente del cromatógrafo

P1= Presión diferencial antes de la colección.

P2 = Presión diferencial luego de la colección.

P3 = Presión diferencial luego de presurizar con N<sub>2</sub>.

Así mismo, para tener como referencia las emisiones de metano entérico (g/animal/día) calculadas con la técnica SF<sub>6</sub> a un nivel de aproximación 3 (Tier 3) se determinó a nivel 2 (Tier 2) el factor de emisión de metano para ganado no lechero utilizando las directrices del IPCC (IPCC 2006) así como el modelo de simulación de estrategias de alimentación del ganado - Life-Simv15.1 León-Velarde *et al.* 2006). Las directrices y fórmulas para sus respectivos cálculos son mostrados en los anexos 21 y 23.

**b. Intensidad de emisión de metano entérico**

Las emisiones de metano entérico expresado como emisión por animal (CH<sub>4</sub>, g/torete/d) fueron expresadas como intensidad de metano entérico para lo cual se divide la emisión de metano entérico por animal por día entre la ganancia diaria promedio de peso corporal de los toretes.

$$\frac{\text{g CH}_4}{\text{kg GDP}} = \frac{\text{CH}_4, \frac{\text{g}}{\text{d}}}{\text{Kg GDP}}$$

Donde:

GDP = ganancia diaria promedio de peso corporal por animal

**c. Emisión de metano entérico por unidad de consumo**

Para determinar las emisiones de metano entérico por unidad de consumo fue necesario determinar el consumo del forraje al pastoreo de la forma siguiente:

- Consumo de forraje al pastoreo fue determinado mediante la técnica de colección parcial de heces, usando el método de marcador de dosis-pulso (Pond *et al.* 1986), para lo cual se utilizó como marcadores externos el óxido crómico y el dióxido de titanio (Batista *et al.* 2011). Para el cálculo del consumo medio de la materia orgánica (CMO, kg-1) de los toretes se determinó: La excreción fecal promedio de la MO (MO<sub>f</sub>, kg-1) y la digestibilidad de la MO (DMO, %) Una vez calculados estos dos parámetros, se estimó el consumo del forraje al pastoreo utilizando la fórmula descrita por Corbett y Freer (1995):

$$\text{CMO, kg}^{-1} = \frac{(\text{MO}_f, \text{kg}^{-1}) \times 100}{100 - \text{DMO, \%}}$$

Dónde:

CMO, kg-1: Consumo medio de la Materia Orgánica (MO) del forraje,

MO<sub>f</sub>, kg-1: Excreción fecal de la MO.

DMO, %: Digestibilidad de la MO

La excreción fecal promedio diario de MO (MO<sub>f</sub>, kg<sup>-1</sup>) fue calculado a partir de la cuantificación de la dosis diaria del marcador externo (óxido crómico o dióxido de titanio) y la concentración del marcador externo en las heces (Prigge *et al.* 1981):

$$\text{MOF, kg}^{-1} = \frac{\text{Dosis del marcador externo, mgd}^{-1}}{\text{Concentración del marcador externo en heces, mgkg}^{-1} \text{ MO}}$$

El marcador externo Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> o TiO<sub>2</sub> fue administrado oralmente (aleatoriamente a 7 animales por cada marcador), en cápsulas de gelatina TORPAC® #7 (volumen 24 ml, longitud. 77 mm, diámetro externo 23.3 mm) durante 15 días consecutivos, en dosis de 25 g/animal/día (siete días de adaptación y ocho días de colección) en cada periodo de estudio (Zorrilla 1980). Se colectó aproximadamente 100 g de muestras de heces directamente del ano del animal una vez al día cada 24 horas y a la misma hora (14:00 pm). Todas las muestras de heces de cada animal/día fueron secadas en una estufa con aire circulante por 48 horas a 40 °C. Luego se procedió a la molienda con un tamiz de 1 mm y mezcladas para obtener una muestra compuesta por cada animal experimental.

La concentración del óxido crómico (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) fue determinada por espectrofotometría de absorción atómica (Perkin-Elmer 2380, Norwald, Connecticut, USA) usando una llama de acetileno según los procedimientos descritos por William *et al.* (1962) en el Laboratorio de Suelos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina. La concentración del marcador dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) fue determinada por espectrofotometría UV (Jenway 6300), a una longitud de onda de 405 nm (Boghun *et al.* 2009), según los procedimientos descritos por Brandt y Allam (1987) en el Instituto de Ciencias Agrícolas en los Trópicos (Instituto Hans-Ruthenberg) de la Universidad de Hohenheim – Alemania. Las concentraciones de Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> y TiO<sub>2</sub> determinadas en las heces se encuentran en los anexos 10 y 11.

La digestibilidad de la materia orgánica (DMO) fue estimada mediante el uso de la ecuación de regresión descrita por Lukas *et al.* (2005) que utiliza la concentración de proteína cruda en el contenido fecal como variable regresora.

$$DMO = 72.86 - 107.7 \times e^{\left(-0.01515 \times \frac{PC \left[\frac{g}{kg} MO\right]}{100}\right)}$$

Dónde:

DMO= digestibilidad de la MO (g/kg MO),

PCf = contenido de Proteína Cruda en la MO fecal (g/kg MO)

Las fracciones químicas de las heces necesarias para estimar la DMO fueron analizados en el Laboratorio de Nutrición Animal y Bioquímica de la Facultad de Zootecnia – Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS) y se analizaron los contenidos de MS (AOAC, 2006, método 930,15), Cz (AOAC, 2006, método 942,05) y PC por el método de semi microKjeldahl (AOAC, 2006, método 920,87).

Finalmente, las emisiones de metano entérico fueron expresadas por unidad de consumo de la materia seca, materia orgánica, fibra detergente neutra y fibra detergente acida de acuerdo con las fórmulas descritas a continuación:

- Por unidad de MS Consumida (g/kg MS consumida):

$$\text{g} \frac{\text{CH}_4}{\text{kg MS Consumida}} = \frac{\text{CH}_4, \frac{\text{g}}{\text{torete}}}{\text{Kg MSconsumida}}$$

- Por unidad de MO Consumida (g/kg MO consumida):

$$\text{g} \frac{\text{CH}_4}{\text{kg MO Consumida}} = \frac{\text{CH}_4, \frac{\text{g}}{\text{torete}}}{\text{Kg MOconsumida}}$$

- Por unidad de FDN Consumida (g/kg FDN consumida):

$$\text{g} \frac{\text{CH}_4}{\text{kg FDN Consumida}} = \frac{\text{CH}_4, \frac{\text{g}}{\text{torete}}}{\text{Kg FDNconsumida}}$$

#### **d. Rendimiento de metano entérico**

El factor de conversión en metano que representa el porcentaje de la energía bruta que se pierde como CH<sub>4</sub> o también llamado rendimiento de metano entérico (Y<sub>m</sub>, %) fue determinado a partir de la emisión de metano entérico expresado como emisión por animal (CH<sub>4</sub>, g/torete/d) y el consumo de energía bruta del animal, mediante la siguiente formula:

$$Y_m (\%) = \frac{\text{CH}_4, \frac{\text{g}}{\text{torete}} \times 55.56 \text{ Mj/kg}}{\text{CMS (kg)} \times \text{EB(Mjkg)}} \times 100$$

Donde:

Ym: es el factor de conversión en metano que representa el porcentaje de la energía bruta que se pierde como CH<sub>4</sub> (%)

CH<sub>4</sub>: Emisión de metano entérico (g/torete/día)

EB: Energía bruta de la dieta (Mj/kg)

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

55.65 es el contenido de energía del metano (Mj/kg CH<sub>4</sub>)

### 3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de las variables en estudio, se empleó estadística descriptiva (media ±E.E.) e inferencia basada en dos muestras (prueba t- Student). Así mismo, se realizó la validación de supuestos, donde la normalidad se probó mediante la prueba de Shapiro-Wilks modificado y la homocedasticidad mediante la prueba F de igualdad de varianzas. Los análisis fueron realizados con el programa Infostat versión 2018 (Di Rienzo *et al.* 2018).

#### 3.6.1 Prueba t- Student para muestras pareadas

La prueba paramétrica de t- Student para muestras pareadas se empleó para comparar el comportamiento de las variables respuesta entre el periodo de mayor y menor precipitación. El cálculo se realizó mediante la fórmula siguiente:

$$T = \frac{\bar{d}}{S_d / \sqrt{n}} \sim T_{(n-1)}$$

$$\bar{d} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n d_i$$

$$S_d = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (d_i - \bar{d})^2}{n-1}}$$

Donde:

t = valor estadístico del procedimiento.

n = es el número de pares,

d<sub>i</sub>=diferencia entre las observaciones registradas en la i-ésima unidad muestral.

S<sub>d</sub> = desviación estándar de las diferencias entre los dos periodos de precipitación.

### **3.6.2 Prueba no paramétrica de Wilcoxon (para observaciones pareadas)**

Para la variable que no cumplieron la validación de los supuestos (normalidad y homocedasticidad) además del procedimiento de transformación de datos ( $\text{Log}_{10} + 1$ ) fueron sometidos al análisis de inferencia basada en dos muestras mediante la prueba no paramétrica de Wilcoxon (para observaciones pareadas). La prueba de Wilcoxon emplea la magnitud y signo de las diferencias entre los pares de observaciones. Dado un conjunto de observaciones pareadas  $(X_i, Y_i); i=1, \dots, n$ , el procedimiento calcula  $D_i=(X_i - Y_i)$ , los valores absolutos de las diferencias, y a ellos les aplica la transformación rango.

## **IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1 EVALUACIONES EN LA PASTURA**

#### **4.1.1 Biomasa total disponible, composición botánica y partes de la planta**

La biomasa total disponible (3558.0 kg de MS/ha en promedio) y la biomasa residual (2423.6 kg de MS/ha en promedio) no difirieron entre periodos de estudio (Cuadro 3). La biomasa total disponible promedio (3558 kg MS/ha) observada en el presente estudio está de acuerdo con lo reportado por Da Cruz (2000) quien determinó una biomasa total de 3495.13 kg MS/ha a los 36 días de edad de la pastura. Menor a lo determinado por Aquino (1987) quien encontró un rendimiento de 5980 kg MS/ha a 45 días de edad de corte durante el periodo de mayor precipitación. Así mismo, fue menor a lo determinado por Flores (2006) quién reportó una producción de forraje de 3650 kg/MS/ha/pastoreo con una dosis de fertilización de 50 kg/ha de nitrógeno durante el periodo de menor precipitación. Sin embargo, los resultados observados de producción de biomasa disponible de ambos periodos indicaría que los toretes durante el pastoreo tuvieron una buena disponibilidad concordando con lo indicado con Minson (1990) que señala el valor de disponibilidad límite mínimo para no restringir el consumo de una pastura debe ser mayor a 2000 kg de MS/ha/ pastoreo.

Esta ampliamente demostrado que la estacionalidad de una zona está condicionada por la distribución de las lluvias, lo que ocasiona la existencia de un periodo de abundancia (mayores precipitaciones pluviales, de altas temperaturas y humedad relativa) y otra de escasez (Metidieri 1983) los cuales ejerce su efecto de manera importante sobre los atributos; composición y estructura de las plantas; calidad y producción forrajera en los trópicos. Por su parte, el pasto alemán al igual que la pastura natural presentan mejores y mayores respuestas agronómicas y productivas durante el periodo de lluvias con relación al periodo de escasez, por ser especies que prefieren suelos más húmedos, presenta alta tolerancia a terrenos inundados, mientras que son muy sensibles a las sequías y suelos compactos (López y Rodríguez 2011).



**Cuadro 3: Biomasa, composición botánica, relación material verde/senescente, fracciones del forraje, relación hoja/tallo de la pastura evaluada durante los dos periodos de estudio.**

|  | Periodo                          |                                  | P-valor              |
|--|----------------------------------|----------------------------------|----------------------|
|  | Mayor precipitación <sup>1</sup> | Menor precipitación <sup>2</sup> |                      |
| <i>Biomasa</i> <sup>5</sup>                                  |                                  |                                  |                      |
| Biomasa total disponible (kg MS/ha)                          | 3854.1 ± 415.9                   | 3261.9 ± 238.9                   | 0.1828 <sup>3</sup>  |
| Biomasa residual (kg MS/ha)                                  | 2679.8 ± 244.6                   | 2167.4 ± 332.9                   | 0.3403 <sup>3</sup>  |
| <i>Composición botánica (%MS)</i> <sup>6</sup>               |                                  |                                  |                      |
| Pasto alemán   | 88.6 ± 1.8                       | 60.4 ± 2.5                       | <0.0001 <sup>3</sup> |
| Pasto natural  | 11.4 ± 1.8                       | 17.0 ± 2.1                       | 0.1264 <sup>3</sup>  |
| Leguminosa <sup>7</sup>                                      | --                               | 22.3 ± 2.6                       |                      |
| <i>Relación material verde/senescente (MS%)</i> <sup>6</sup> |                                  |                                  |                      |
| Material verde   | 88.6 ± 0.6                       | 88.3 ± 1.8                       | >0.9999 <sup>4</sup> |
| Material senescencia   | 11.4 ± 0.6                       | 11.7 ± 1.8                       | >0.9999 <sup>4</sup> |
| <i>Fracciones del forraje (MS%)</i> <sup>6</sup>             |                                  |                                  |                      |
| Hoja   | 74.0 ± 1.0                       | 74.8 ± 2.1                       | 0.6007 <sup>3</sup>  |
| Tallo  | 26.0 ± 1.0                       | 25.6 ± 2.2                       | 0.7902 <sup>3</sup>  |
| <i>Relación hoja /tallo (MS)</i> <sup>6</sup>                | 2.9 ± 0.2                        | 3.1 ± 0.4                        | 0.3966 <sup>3</sup>  |

<sup>1</sup>Corresponde al último mes del periodo de mayor precipitación pluvial. <sup>2</sup>Corresponde al último mes del periodo de menor precipitación pluvial. <sup>3</sup>P-valor <0.05 en la misma fila indican diferencias significativas entre sí a la prueba T-student y <sup>4</sup>a la prueba No paramétrica de Wilcoxon para muestras apareadas. <sup>5</sup>Por método destructivo. <sup>6</sup>Por simulación manual. <sup>7</sup>presente solamente durante el periodo de menor precipitación.

La utilización de forraje o eficiencia de cosecha es la cantidad de pasto consumida del total ofrecido y es calculada como la diferencia entre la biomasa pre y pos-pastoreo (Lombardo 2005). La utilización de forraje en el presente estudio fue de 30.5 y 33.6 % para el periodo de mayor y menor precipitación respectivamente, con un valor promedio de 32 % para ambos periodos, valor considerado muy bajos, siendo el porcentaje de utilización recomendado entre 40 a 50% de la altura inicial con lo cual no se altera el vigor de la pastura (Moraes y Teixeira 2018). La asignación de forraje representa la cantidad de biomasa potencial disponible por animal para cada día de pastoreo, es decir, los kilogramos (kg) de pasto que se les ofreció los animales, expresado en kg de materia seca (MS) de pasto por cada 100 kg.

de peso vivo por día (Flores 1992; Lombardo 2005), en ese sentido, la asignación de biomasa disponible para el periodo de mayor precipitación fue de 65.5 Kg MS/torete/día, que correspondería a una asignación de 23.4 % del peso vivo para animales de 280 Kg y de 46.7 Kg MS/torete/día o 13.2% del peso vivo a animales de 352 Kg para el periodo de menor precipitación, respectivamente, los mismos que son considerados como muy altos por Lombardo (2005) quien manifiesta que una asignación óptima de forraje toma valores entre el 8 – 9 %.

La baja utilización del forraje estaría explicada por la alta asignación de la biomasa disponible en ambos periodos, por lo que una alta asignación (mayor de 12%) propicia consumos de alrededor del 20 % ocasionando un bajo aprovechamiento del forraje ofrecido (Lombardo 2005) quien además señala que existe una estrecha relación entre la asignación forrajera y el aprovechamiento del forraje por lo que los valores de utilización deben de estar ubicados entre 45 – 50%, con extremos en 30% y 70%. y por lo que una alta asignación sólo logra consumos de alrededor del 20 %.

La composición botánica de la pastura seleccionada difirió en ambos periodos (Cuadro 2, Anexo 7 y 8). El periodo de mayor precipitación presentó mayor proporción de pasto alemán ( $P<0.0001$ ) que el periodo de menor precipitación, y la proporción de pasto natural fue similar en ambos periodos ( $P=0.1264$ ). Así mismo, solo durante el periodo de menor precipitación se observó la presencia de leguminosas (5.9 % en promedio del total de la pastura). Sin embargo, con relación de las fracciones del forraje y partes de la planta seleccionada, los resultados obtenidos fueron similares entre ambos periodos. La alta disponibilidad de biomasa y la alta asignación de forraje ofrecido, permitió que los animales pudieran pastorear sin restricciones y sin obstaculización de su capacidad selectiva, por lo que consumieron mayor proporción de hojas (74.2%) que los tallo y al material verde (88.6%) que al senescente y por consiguiente una mayor relación hoja/tallo (3.0 en promedio) respectivamente.

Detmann *et al.* (2001) y Piña y Olivares (2012) en ese sentido dedujeron que la alta disponibilidad de masa de forraje permitía el pastoreo sin restricciones y no obstaculizaba la capacidad selectiva de los animales, generando así la posibilidad de maximizar la ingesta de materia seca, por lo tanto, el consumo voluntario del forraje no se vería afectado. Ramírez (1997), Gordon y Lascano (2000), manifiestan que cuando existe una alta biomasa

disponible y asignación de forraje los animales prefirieron las hojas comparado a las otras fracciones, por ser más digestibles y nutritivos, especialmente con buen contenido de proteína, mientras que las plantas maduras son rechazadas generando de esta manera un proceso de selectividad en el consumo, además de una mayor invasión de las plantas no deseadas (malezas) con el transcurrir de los días de pastoreo (Tarazona *et al.* 2012; Ramírez 1997), situación que se presentó al finalizar los 9 días de pastoreo (anexos 7 y 8).

#### **4.1.2 Calidad nutritiva pastura seleccionada**

La pastura seleccionada presentó diferente calidad nutricional en ambos periodos de estudio. El contenido de PC ( $P < 0.0001$ ), ED ( $P < 0.0284$ ) y DMO ( $P < 0.0005$ ) fue mayor en el periodo de menor precipitación que el periodo de mayor precipitación, pero similar en ambos periodos el contenido de MS, MO, FDN, FDA, EB y DIVV de la MS y MO (Cuadro 4; anexo 9 y 10). Las pasturas de ambos periodos muestran un adecuado contenido de MS (25 % en promedio), concordante con el 25% en pasturas sugerido por Forbes (1995). El contenido de MO de ambos periodos, fueron similares a lo reportado por McDowel (1974) quien refiere que las pasturas tropicales poseen en promedio 885 g MO/kg MS. El mayor contenido de PC en el periodo de menor precipitación se debería al aporte de las leguminosas (22% PC: Kudzú *Pueraria phaseoloides* y Calopo *Calopogonium mucunoides* consumidos durante los días de pastoreo. Estos contenidos de PC se encuentran por encima del umbral mínimo de nitrógeno (7%) para la actividad de los microorganismos ruminales (Minson 1977; Araujo 2005).

El contenido de FDN y FDA de la pastura seleccionada en ambos periodos fueron similares, estos valores de fibra se encontraban dentro del rango mencionado por Church (1970). La FDA de ambos periodos fueron superiores al FDA en pasturas tropicales (30–34%) reportado por Monsalve (1978). Sin embargo, la pastura seleccionada presentó una tendencia a incrementar tanto el contenido de FDN como de FDA durante los 9 días de pastoreo (anexo 5). Este hecho se debería a la alta asignación y baja utilización del forraje (Lombardo 2005) que ocasionó una mayor capacidad selectiva de los animales al poder pastorear sin restricciones y sin obstaculización (Detmann *et al.* 2001) y consumir más el material verde y hojas por ser más nutritivos y digestibles (Lombardo 2005; Ramírez 1997; Gordon y Lascano 2000).

**Cuadro 4: Composición química, energía bruta, digestibilidad y producción de gases de la pastura seleccionada durante los dos periodos del estudio**

|  | Periodo                          |                                  | P-valor              |
|--|----------------------------------|----------------------------------|----------------------|
|  | Mayor precipitación <sup>1</sup> | Menor precipitación <sup>2</sup> |                      |
| <i>Composición química (g/kg MS)<sup>5</sup></i>                 |                                  |                                  |                      |
| - MS   | 253.4 ± 8.0                      | 276.0 ± 6.7                      | 0.1082 <sup>3</sup>  |
| - MO   | 883.0 ± 3.3                      | 886.1 ± 1.1                      | 0.3321 <sup>3</sup>  |
| - PC   | 100.7 ± 1.6                      | 125.6 ± 2.0                      | <0.0001 <sup>3</sup> |
| - FDN  | 685.0 ± 4.5                      | 699.7 ± 4.9                      | 0.1031 <sup>3</sup>  |
| - FDA  | 379.7 ± 3.1                      | 379.4 ± 4.4                      | 0.9620 <sup>3</sup>  |
| <i>Energía (Mj/kg MS)<sup>5</sup></i>                            |                                  |                                  |                      |
| - EB   | 16.0 ± 0.1                       | 16.4 ± 0.01                      | 0.0594 <sup>4</sup>  |
| - ED   | 10.6 ± 0.04                      | 11.1 ± 0.003                     | 0.0284 <sup>4</sup>  |
| <i>Digestibilidad verdadera in vitro (g/kg MS)<sup>5,6</sup></i> |                                  |                                  |                      |
| - MS   | 583.4 ± 4.2                      | 571.0 ± 8.6                      | 0.1422 <sup>3</sup>  |
| - MO   | 643.9 ± 5.5                      | 648.8 ± 10.0                     | 0.5813 <sup>3</sup>  |
| <i>Producción de gas<sup>7</sup></i>                             |                                  |                                  |                      |
| - PNGC (ml/200 mg de MS incubada)                                | 34.2 ± 0.97                      | 33.9 ± 0.97                      | 0.0154 <sup>3</sup>  |
| - CH <sub>4</sub> (mg/100 mg de MS incubada)                     | 2.2 ± 0.05                       | 2.2 ± 0.06                       | 0.1817 <sup>3</sup>  |

<sup>1</sup>Corresponde al último mes del periodo de mayor precipitación pluvial. <sup>2</sup>Corresponde al último mes del periodo de menor precipitación pluvial. <sup>3</sup>P-valor <0.05 en la misma fila indican diferencias significativas entre si a la prueba T-student y <sup>4</sup>a la prueba No paramétrica de Wilcoxon para muestras apareadas <sup>5</sup>Por simulación manual; <sup>6</sup>Modelo Daisy II; <sup>7</sup>Método Hohenheim Gas Test; PNGC: producción neta de gas corregida; CH<sub>4</sub>: metano

La digestibilidad verdadera *in vitro* del forraje consumido de la materia seca (DIVVMS) y de la materia orgánica (DIVVMO) fueron similares en ambos periodos (Cuadro 4). La DIVVMS de la pastura seleccionada está acorde con los valores de DIVMS de 566.0 g/kg MS reportado por Manrique (1993) y al reportado por Arce *et al.* (2003) de 495.9 g/kg MS. La DIVMO fue mayor a la DIVVMO de 585.0 g/kg MS determinado por Manrique (1993). La mayor DIVVMS del forraje consumido se debió al mayor consumo de la fracción hoja (relación hoja/tallo de 3.0) que generó una alta digestibilidad *in vitro* de la biomasa total y por consiguiente mantener una buena calidad de la pastura. Estrada *et al.* (1998) considera que una pastura es de buena calidad si su digestibilidad de MS es mayor de 550.0 g/kg MS (55%).

La digestibilidad de la materia orgánica (DMO) de la pastura estimada a partir del contenido de proteína cruda fecal (Lukas *et al.* 2005) fue mayor ( $P < 0.0005$ ) el periodo de menor precipitación pluvial con relación al periodo de mayor precipitación pluvial (anexo 10 y 11). La mayor DMO durante el periodo de menor precipitación pluvial se debería a la mejor relación entre el contenido de PC y la DMO. Poppi y McLennan (1995) señalan que para permitir una adecuada degradación celulolítica a nivel ruminal debe de existir una relación óptima entre el contenido de PC y la DMO de la pastura, la cual debe ser de 210 g PB/kg MOD. El nivel mínimo de proteína de la pastura para el periodo de mayor precipitación pluvial resultó de 173 g PB/kg MOD y para el periodo de menor precipitación pluvial de 207 g PB/kg MOD. Por lo que, el contenido de PC de la pastura seleccionada en el periodo de mayor precipitación pluvial de 100.7 gr/kg MS estaría muy por debajo del valor mínimo requerido para una óptima degradación celulolítica a nivel ruminal, mientras que el contenido de PC del periodo de menor precipitación pluvial de 125.6 gr/ kg MS se encuentra ligeramente debajo de ese nivel. Además, la mayor DMO podría ser consecuencia del consumo de leguminosas que solo estuvieron presentes en la dieta de los animales durante el periodo de menor precipitación pluvial debido a que las leguminosas son más digestibles. (Barahona y Sánchez 2005) así como a su bajo contenido de FDN que genera mayores tasas de pasaje en comparación con las gramíneas (McCaughey *et al.* 1999; Waghorn y Woodward 2006; Kasuya y Takahashi 2010), mientras que las gramíneas contienen el doble de fibra a nivel hojas en comparación con las leguminosas por lo que las hace menos digeribles (Barahona y Sánchez 2005).

La DMO de ambos periodos (67 % en promedio, anexo 10 y 11) se encuentra muy cercano al valor promedio para ambos periodos de DIVMO de 64.3 %, se tomó este criterio en virtud de la alta correlación directa y positiva entre la digestibilidad *in vitro* e *in vivo* (France *et al.* 2000). En ese sentido, Travieso *et al.* (1999) determinaron la relación entre la digestibilidad *in vivo* e *in vitro* (DIV) de varios alimentos y encontraron una alta relación de  $r^2 = 0,897$ . Igualmente, Arce *et al.* (2003) quienes realizaron un estudio comparativo de la digestibilidad de forrajes mediante dos métodos de laboratorio y encontraron un alto grado de asociación (0.987) entre los resultados de ambos métodos. Por su parte, Narváez y Lascano (1989) realizaron estudios de digestibilidad *in vitro* de diferentes especies forrajeras tropicales y encontraron una correlación de 0.94 para las gramíneas y de 0.97 para las leguminosas.

Los valores de DIVMO y DMO determinados en el presente estudio son valores considerados como aceptables para un forraje de buena calidad (Soto *et al.* 2009) y dentro de los rangos comunes para forrajes tropicales (Van Soest 1994). Sin embargo, durante el periodo de pastoreo en ambos periodos se pudo observar una disminución de la DIVMO, así como de la DMO a medida que se incrementaba la edad de la planta (45 a 54 días), que estaría asociada al proceso de lignificación, haciendo que los forrajes sean más fibrosos y menos digestibles (Van Soest *et al.* 1991).

La técnica *in vitro* de producción de gases (TIVPG) en los últimos años ha sido modificada para estimar la producción de metano (Navarro-Villa *et al.* 2011; Pellikaan *et al.* 2011) y cada vez se constituye como primer enfoque para probar potenciales alimentos y aditivos para la evaluación de estrategias de reducción o de inhibición de la producción de metano (Goopy *et al.* 2016). La PNGC fue de  $34.2 \pm 0.97$  ml/200 mg de MS incubada siendo mayor el periodo de mayor precipitación pluvial con respecto al el periodo de menor precipitación pluvial de  $33.9 \pm 0.97$  ml/200 mg de MS incubada ( $P < 0.0154$ ). Sin embargo, la producción de metano *in vitro* (PMIV) a 24 horas de incubación fue similares en los dos periodos de estudio ( $2.2 \pm 0.05$  y  $2.2 \pm 0.06$  ml/100 mg de MS incubada;  $P=0.18171$ ) (Cuadro 4, anexo 13).

La PNGC ( $34.1$  ml/200 mg de MS incubada en promedio) y la PMIV ( $2.2$  mg/100 mg de MS incubada en promedio) fueron mayores al reportado por Bedoya-Mazo *et al.* (2016) en pasto *Brachiaria decumbens* pero inferior a la estimada en pasturas silvopastoriles manejadas intensivamente (Rivera *et al.*, 2015). La PNGC y PMIV fueron inferiores al reportado por Vargas (2013) en muestras de gramíneas y leguminosas incubadas a 48 horas en el trópico, e inferiores a la producción total de gas y metano del pasto *Brachiaria Brachiaria brizantha* cv. Marandu obtenido por Canesin (2009) y al obtenido por Meale *et al.* (2012) en diferentes pasturas como *Andropodon gayanus*, *Brachiaria ruziziensis* y *Pennisetum purpureum*. En el presente estudio, la PNGC y PMIV inferiores obedecen al menor periodo de incubación utilizado (24 horas) y a la calidad nutricional de las muestras. Aunque Van Soest (1994) manifiesta que hacer una comparación entre especies es muy difícil debido fundamentalmente a las grandes variaciones en los estados de madurez de las pasturas, especialmente las que se desarrollan en climas tropicales, en los cuales los cambios en los CNE asociados a la madurez son más significativos.

Varios estudios señalan que a medida que aumenta el tiempo de incubación, el volumen de gases producidos aumenta, debido al efecto de la fermentación de los carbohidratos estructurales del sustrato (Theodorou *et al.* 1994). En cuanto a la calidad nutricional de las muestras incubadas, la producción de AGV y de metano en un sistema *in vitro* estarían más estrechamente relacionados a la fermentación de carbohidratos degradables (Leng, 2011), principalmente de los carbohidratos estructurales (López 2005). Moss (1994) manifiesta que, en los forrajes de baja calidad, la adición de nutrientes a los microorganismos aumenta la eficiencia del crecimiento microbiano, porque aumentan la eficiencia del proceso de fermentación ruminal y se fermenta una mayor cantidad de materia orgánica y en consecuencia aumenta la producción de gases.

#### **4.2 EMISIÓN DE METANO ENTÉRICO UTILIZANDO LA TÉCNICA DEL TRAZADOR HEXAFLUORURO DE AZUFRE**

En el presente estudio para medir las emisiones de CH<sub>4</sub> entérico con animales al pastoreo extensivo en una pastura tropical utilizando la técnica del trazador hexafluoruro de azufre (SF<sub>6</sub>) en condiciones de selva del Perú, la colecta de muestras de gases se realizó a partir de 12 animales y por 9 días consecutivos, así mismo, dos muestras por animal y por día, de acuerdo con la recomendación de Berndt *et al.* (2014), lográndose una alta eficiencia de colección 94% para el periodo de mayor precipitación pluvial y de 86 % en el periodo de menor precipitación pluvial. Esta eficiencia de recolección son superiores a lo reportado por Gere y Gratton (2010) con relación al uso y adaptación de la técnica SF<sub>6</sub>, quienes obtuvieron una eficiencia de colección del 80%.

Los resultados de emisión de metano entérico en ambos periodos de estudio presentaron variaciones a nivel de animales y días de medición. Entre animales tuvieron una variación entre 20.4 y 12.7% y entre días de medición de 22.8 y 19.0 %, tanto para el periodo de mayor y menor precipitación pluvial, respectivamente (Anexo 22), nuestros coeficientes de variación concuerdan con Arbre *et al.* (2016) en vacas secas (23%) para emisión (g/día), con Boadi y Wittenberg (2002) quienes también encontraron variaciones de 26.9 y 27.1% en las mediciones diarias de CH<sub>4</sub> con la técnica del trazador de SF<sub>6</sub> y Grainger *et al.* (2007) en vacas lactantes (20% para emisión), mientras que Hammond *et al.* (2015) encontraron coeficientes de variación más altos de 30% para emisión (g/día) en 12 vaquillas lecheras al pastoreo animales y dos períodos de mediciones de 4 días. Sin embargo, no coincide con

Deighton *et al.* (2014) quienes encontraron un bajo coeficiente de variación entre los animales (6.5%), quienes utilizaron la técnica SF<sub>6</sub> modificada utilizando restrictores de flujo en lugar de tubos capilares.

Doreau *et al.* (2018) realizaron un estudio de comparación de tres métodos (cámara respiratoria (CR), SF<sub>6</sub> y GreenFeed (GF)) y encontraron diferentes coeficientes de variación entre los animales con respecto a la emisión de CH<sub>4</sub>, resultando el método del trazador SF<sub>6</sub> el que presentó mayor variación que CR y GF (20.8, 13.5 y 12.0% en promedio, respectivamente). De igual manera, encontraron altos coeficientes de correlación y significativos entre CR y SF<sub>6</sub> para la emisión de CH<sub>4</sub> y el rendimiento de CH<sub>4</sub>/kg de MSC ( $r = 0.782$  y  $r = 0.717$ , respectivamente;  $P < 0.05$ ), pero no significativos entre CR y GF, o entre SF<sub>6</sub> y GF. Por lo que, Grainger *et al.* (2007) señalaron que la técnica del gas trazador SF<sub>6</sub> es una técnica que posee variaciones elevadas comparadas con cámaras respiratorias.

McGinn *et al.* (2006) mencionan que esta técnica subestima la emisión de CH<sub>4</sub> en cuatro por ciento aproximadamente con relación a la técnica de cámara respiratoria. Lassey *et al.* (2011) y Pinares-Patiño y Clark (2008) señala que la alta variación se debe a las desventajas de la técnica SF<sub>6</sub> que son: la precisión y confiabilidad de la tasa de permeación. Martin *et al.* (2011) manifiestan que se puede conseguir menores variaciones en las emisiones de CH<sub>4</sub> cuando se utilizan capsulas con variaciones más pequeñas en sus tasas de permeación. Se obtuvo variaciones entre las tasas de permeación de 7.4% consideradas pequeñas, con valores que oscilan desde 5.1050 mg hasta 6.5948 mg SF<sub>6</sub>/día y un valor promedio de 5.9165 ± 0.1256 mg de SF<sub>6</sub>/día (media ± EE). Así mismo un  $r^2 = 0.9998$  en promedio (0.9995 – 0.9999 (anexo 17) que concuerda con Berndt *et al.* (2014) que recomienda un  $r^2 = 0.9995$ .

#### **4.2.1 Emisión de metano entérico e intensidad de emisión**

La emisión de metano entérico por día fue diferente entre ambos periodos. Sin embargo, la intensidad de emisión de CH<sub>4</sub> por GDP no difirió entre periodos de estudio (Cuadro 6). La emisión diaria de CH<sub>4</sub> en los vacunos de carne varía entre 100 y 450 g/día (Carmona *et al.* 2005) la misma que depende de factores relacionados con el alimento (Jonker *et al.* 2017; Lassey *et al.* 2011; Moss *et al.* 2000) y de factores los relacionados al animal y sus interacciones (Dämmgen *et al.* 2012; Ramírez-Restrepo *et al.* 2015). Sin embargo, la tasa de emisión de metano entérico, están más relacionados con la cantidad de alimento consumida



y la calidad de la dieta (composición química, digestibilidad, concentración energética) (Yan *et al.* 2010; Jonker *et al.* 2017), así como de las características físicas del alimento (Carmona *et al.* 2005).

**a. Emisión de metano entérico por día, peso metabólico y peso vivo**

La emisión de metano entérico por día, peso metabólico y peso vivo fue diferente entre ambos periodos (Cuadro 5). El periodo de menor precipitación pluvial presentó mayor emisión de metano entérico (g CH<sub>4</sub>/día) (P< 0.0001), por peso metabólico (g CH<sub>4</sub>/kg PV<sup>0.75</sup>) (P<0.0001) y emisión diaria de CH<sub>4</sub> por peso vivo (g CH<sub>4</sub>/d/kg PV) (P<0.0012) en comparación con el periodo de mayor precipitación pluvial.

**Cuadro 5: Efecto del periodo de precipitación pluvial sobre la emisión de metano entérico e intensidad de emisión generadas por toretes al pastoreo**

| Variable  | Periodo                          |                                  | P-valor              |
|---|----------------------------------|----------------------------------|----------------------|
|   | Mayor precipitación <sup>1</sup> | Menor precipitación <sup>2</sup> |                      |
| <i>Emisión de metano entérico</i>               |                                  |                                  |                      |
| g/día   | 176.5 ± 8.9                      | 296.7 ± 10.9                     | <0.0001 <sup>3</sup> |
| g/kg PV <sup>0.75</sup>                         | 1.4 ± 0.1                        | 2.5 ± 0.1                        | <0.0001 <sup>3</sup> |
| g CH <sub>4</sub> /d/Kg PV                      | 0.6 ± 0.02                       | 0.9 ± 0.1                        | 0.0012 <sup>4</sup>  |
| <i>Intensidad de emisión de metano entérico</i> |                                  |                                  |                      |
| g CH <sub>4</sub> /Kg GDP                       | 354.7 ± 85.2                     | 489.4 ± 120.6                    | 0.0833 <sup>4</sup>  |

<sup>1</sup>Corresponde al último mes del periodo de mayor precipitación pluvial. <sup>2</sup>Corresponde al último mes del periodo de menor precipitación pluvial. <sup>3</sup>P-valor <0.05 en la misma fila indican diferencias significativas entre si a la prueba T-student y <sup>4</sup>a la prueba No paramétrica de Wilcoxon para muestras pareadas; g: gramo; CH<sub>4</sub>: metano, kg. kilogramo, PV: peso vivo; PV<sup>0.75</sup>: peso metabólico; GDP: ganancia diaria promedio

La posible variación observada sobre la emisión promedio de metano (g/día) por efecto del periodo de precipitación pluvial fue también reportado por Muñoz *et al.* 2015 y Merlo *et al.* 2017 quienes manifiestan que la estacionalidad ejerce su efecto directo sobre la calidad de la dieta y de manera indirecta sobre las emisiones de metano que depende de la calidad de la dieta (DeRemus *et al.* 2003; Yan *et al.* 2010).

Los resultados observados durante ambos periodos son similares en relación con la emisión promedio de metano (g/día) lo observado por Canesin (2009) quienes evaluaron los efectos de la frecuencia de suplementación sobre la fermentación ruminal y la emisión de CH<sub>4</sub> de

toretas Nellore ( $399 \pm 32.6$  kg PV) al pastoreo continuo sobre una pastura tropical de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu en dos meses con estacionalidad marcada y obtuvieron 176.8 g CH<sub>4</sub>/día para el mes de septiembre y 311 g CH<sub>4</sub>/día en noviembre, respectivamente. Sin embargo, cuando comparamos la emisión de metano en función del peso metabólico (gCH<sub>4</sub>/ kg PV<sup>0.75</sup>) observados durante ambos periodos, son inferiores al compararlos con este mismo trabajo y reportaron una emisión de 2.08 g CH<sub>4</sub>/ kg PV<sup>0.75</sup> en septiembre y de 2.97 g CH<sub>4</sub>/ kg PV<sup>0.75</sup> en noviembre, respectivamente, concluyendo que la calidad de la dieta fue el factor determinante sobre las diferencias de las emisiones de metano entérico. La emisión promedio en g CH<sub>4</sub>/día, g CH<sub>4</sub>/d/kg PV y g CH<sub>4</sub>/ kg PV<sup>0.75</sup>, observadas durante ambos periodos es inferior a lo señalado por Primavesi *et al.* (2003) quien comparó las emisiones de metano provenientes de vaquillas cruces de Holstein x Cebú con pesos iniciales de 370, 364 y 385 kg manejadas al pastoreo, las mismas que recibieron una suplementación con dos variedades de caña de azúcar con relaciones extrema de FDN: sacarosa que propiciaba una mayor o menor contenido de FDN de las dietas y reportó emisiones de metano de 101, 118 y 153 g CH<sub>4</sub>/día; 0.27, 0.33 y 0.40 g CH<sub>4</sub>/ kg PV, y de 1.20, 1.42 y 1.77 g CH<sub>4</sub>/kg de PV<sup>0.75</sup>, respectivamente.

Al comparar solo el periodo de mayor precipitación pluvial, la emisión promedio en g CH<sub>4</sub>/día y g CH<sub>4</sub>/d/kg de PV fue inferior a la reportado por Primavesi *et al.* (2004) quien determinó emisiones de CH<sub>4</sub> en cruces de Holstein x Cebú de 365 y 374 kg de PV, durante el periodo de lluvias en condiciones del trópico brasileño, sometidas a pastoreo extensivo en una pastura de *Brachiaria decumbens* Stapf. con y sin fertilización y reportó emisiones de CH<sub>4</sub> para las vaquillas cruzadas manejadas en sistema extensivo (SE) con fertilización de 227 g de CH<sub>4</sub>/día y 0.62 g CH<sub>4</sub>/d/kg de PV y para SE sin fertilización de 181 g de CH<sub>4</sub>/día, 0.48 g CH<sub>4</sub>/d/ kg de PV, respectivamente, atribuyendo estos resultados a la menor calidad del forraje extensivo y sin fertilización, especialmente porque tiene más fibra, menos proteína cruda y es menos digerible, comportamiento similar fue observado en el presente estudio durante ambos periodos (menos proteína cruda, más FDN, y menor digestibilidad) a pesar de haber sido manejada como un sistema rotacional y con fertilización nitrogenada de mantenimiento (50 kg de nitrógeno/ha/pastoreo).

La emisión de metano entérico expresado en g CH<sub>4</sub>/día y g CH<sub>4</sub>/ kg PV<sup>0.75</sup> durante el periodo de mayor precipitación pluvial fue similar a lo reportado por DeRamus *et al.* (2003) pero superior durante el periodo de menor precipitación pluvial, quienes midieron emisiones de

metano con novillas de carne Simbrah (Brahman 5/8 x Simmental 3/8) con pesos vivos entre 323 a 390 kg, alimentadas con pasto *Paspalum notatum* y *Cynodon dactylon* en dos estaciones del años (otoño y verano) y con dos sistemas de manejo (sistema de pastoreo continuo y baja disponibilidad forrajera (S1) y, sistema de pastoreo rotacional y alta disponibilidad forrajera (S2) y observaron durante las estaciones de otoño para el sistema (S1) de 180 g CH<sub>4</sub>/día y 2.15 g CH<sub>4</sub>/ kg PV<sup>0.75</sup> y para el sistema (S2) de 152 g CH<sub>4</sub>/día y 1.86 g CH<sub>4</sub>/ kg PV<sup>0.75</sup>. Mientras que para para el verano de 164 g CH<sub>4</sub>/día y 1.83 g CH<sub>4</sub>/ kg PV<sup>0.75</sup> para S1 y de 143 g CH<sub>4</sub>/día y 1.61g CH<sub>4</sub>/ kg PV<sup>0.75</sup> para S2, respectivamente. Sin embargo, las emisiones de CH<sub>4</sub> durante el periodo de mayor precipitación pluvial fueron inferiores a lo reportado Fitzsimons et al. (2013) y similares a lo observado en el periodo de menor precipitación. El estudio en referencia examinaron la relación de la ingesta residual de alimento (IRA) y las emisiones de CH<sub>4</sub> en vaquillas de carne Simmental (449 kg de PV) y obtuvieron en los animales con menor IRA una emisión de 260 g CH<sub>4</sub>/d y de 2.5 g CH<sub>4</sub>/kg PV<sup>0.75</sup>.

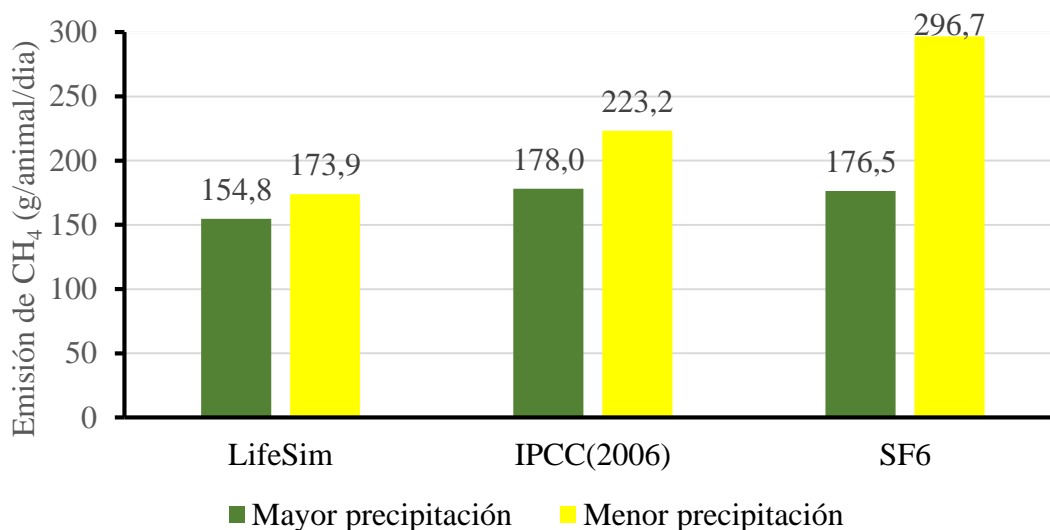
La emisión de CH<sub>4</sub>/día y CH<sub>4</sub>/ kg PV<sup>0.75</sup> durante el periodo de mayor precipitación pluvial fueron similares a Pedreira *et al.* (2009), sin embargo, los resultados del periodo de menor precipitación pluvial fueron mayores, quienes cuantificaron las tasas de emisión de metano (CH<sub>4</sub>) de vaquillas Cruce lechero brasileño (¾ Holstein x ¼ Gir (Cebú)) al pastoreo extensivo en pasto *Brachiaria (Brachiaria decumbens* cv. Basilisk) no fertilizado bajo condiciones tropicales del sudeste de Brasil y observaron emisiones CH<sub>4</sub>, tanto para el verano como para el otoño de 181 y 180 g CH<sub>4</sub>/d, de 2.12 y 2.05 g CH<sub>4</sub>/kg PV<sup>0.75</sup>, respectivamente. Mientras que durante el periodo de menor precipitación pluvial fue superior a lo reportado por Carvalho *et al.* (2016) quienes evaluaron, el efecto de diferentes fuentes de lípidos en el rendimiento y la emisión de CH<sub>4</sub> de toretes Nellore (442 kg PV) que pastoreaban una pastura de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés. en la estación seca de Jaboticabal, SP, Brazil y observaron en los animales sin suplementación de lípidos una emisión de 114 g CH<sub>4</sub>/día; de 1.12 g CH<sub>4</sub>/ kg PV<sup>0.75</sup> y 0.24g CH<sub>4</sub>/d/kg PV, respectivamente.

El factor de emisión (g de CH<sub>4</sub>/cabeza/día) observado durante el periodo de mayor precipitación pluvial de 176.5 ± 8.9 y seca de 296.7 ± 10.9 g CH<sub>4</sub>/cabeza/día, respectivamente, son superiores al factor de emisión por fermentación entérica reportado en la Tercera Comunicación Nacional del 2012 (MINAM 2016) de 64.38 kg de CH<sub>4</sub>/cabeza/año (101.4 g de CH<sub>4</sub>/cabeza/día) para el ganado vacuno no lechero. Esta amplia diferencia se

debe a que el mencionado factor de emisión fue calculado con el nivel Tier 1 que utiliza promedios globales como valor de densidad de energía promedio de los alimentos 18.45 MJ/kg, y una tasa de conversión de la energía bruta en CH<sub>4</sub> (Y<sub>m</sub>) de 0.06 (6.0%).

El factor de emisión de metano entérico calculado a nivel de acercamiento 2 (Tier 2) siguiendo tanto las directrices del IPCC (2006) así como con el uso del *software* LifSim se puede observar que el factor de emisión calculado con el IPCC para el periodo de mayor precipitación pluvial fue de 178.0 g de CH<sub>4</sub>/torete/día, resultado similar a los determinados con la técnica del trazador SF<sub>6</sub> de 176.5 g de CH<sub>4</sub>/torete/día utilizando Tier 3, pero con relación al el periodo de menor precipitación pluvial fue muy inferior (223.2 vs 296.7 g de CH<sub>4</sub>/torete/día) (anexo 22). Mientras que los valores determinados con el *software* LifeSim de 154.8 y 173.9 g CH<sub>4</sub>/torete/día (anexo 24) fueron menores para ambos periodos de evaluación tanto al ser comparados con los valores obtenidos con el trazador SF<sub>6</sub> así como con el IPCC (2006), respectivamente (Figura 11.). En comparación con el cálculo con la técnica del trazador SF<sub>6</sub> el uso de la ecuación del IPCC, estimó menos emisión de CH<sub>4</sub> de 25.8 % para el periodo de menor precipitación pluvial. De igual modo, el *software* LifeSim estimó menos emisión de CH<sub>4</sub> con relación a la técnica de trazador SF<sub>6</sub> en niveles del 12.3 y 41.4% para toretes en pastoreo durante el periodo de mayor y menor precipitación pluvial del trópico peruano, respectivamente.

La diferencia observada al usar la ecuación propuesta por el IPCC (2006) también fue observada por Ricci *et al.* (2014) quienes realizaron un metaanálisis a partir de estudios en los que se habían registrado características de CH<sub>4</sub>, consumo, tipo de animal y alimentación, a partir de los cuales generaron ecuaciones de predicción que, al comparar con la ecuación del IPCC (2006) tiende a producir estimaciones más altas de los resultados de CH<sub>4</sub> en toretes de engorde alimentados con dietas de baja calidad y estimaciones más bajas de CH<sub>4</sub> de toretes alimentados con dietas de alta calidad. Así mismo determinaron que la ecuación del IPCC predijo hasta un 26% más de CH<sub>4</sub> en promedio de vacas en pastoreo en lactancia individual.



**Figura 11: Emisión de metano entérico determinados mediante el *software* LifeSim, directriz del IPCC (2006) y técnica del trazador SF<sub>6</sub> generados por toretes al pastoreo en condiciones de selva alta del Perú**

El *software* Life-Sim estima las emisiones de CH<sub>4</sub> mediante las metodologías Tier 1 y 2 propuestas por el IPCC (2006) de acuerdo con coeficientes de emisiones previamente establecidos a partir de la determinación del CMS, las características de la dieta y de una población en particular a partir de la simulación de los cambios en producción animal en un periodo de un año en función de las variaciones en las estrategias de alimentación (León Velarde *et al.* 2006). Sin embargo, muchos autores han sugerido que estas metodologías son útiles para hacer las primeras aproximaciones, pero en muchos casos podría sub o sobre estimar las emisiones reales de metano (Kebreab *et al.* 2006).

León-Velarde *et al.* (2006) recomienda que la variable de salida *emisión de metano* pueden ser usados con otros modelos para calcular la función que mejor relacione el consumo de alimentos con las emisiones de metano. Posiblemente esta limitante esté relacionada a que LifeSim, estima las emisiones de metano a partir de la predicción del consumo de materia seca (CMS) del animal y del grado de digestibilidad de este, bajo diferentes escenarios. Además, existen pocas investigaciones en las que se han trabajado con el Life-Sim, por lo que resulta difícil tener datos para comparar lo simulado en este estudio. La poca información está referida como herramientas de simulación en alimentación estratégica para ganado de leche, con excepción del estudio realizado por Lemus (2008), que utiliza el simulador para estimar la ganancia de peso en toretes en diferentes condiciones o escenarios de pasturas en estados de degradación.

La mayoría de las ecuaciones de predicción de metano se basan en la determinación del consumo de materia seca (CMS) debido a que la producción de este gas depende directamente de este factor (CMS) (Buddle *et al.* 2011; Jonker *et al.* 2017). Sin embargo, se conoce que la emisión de metano también depende de la calidad del alimento ingerido (Boadi *et al.* 2002; IPCC 2007). En ese sentido, Escobar *et al.* (2016) y Restrepo *et al.* (2016) manifiestan que las ecuaciones que mejor predicen las emisiones de metano y minimizan el error, son la que toman en cuenta la concentración de fibra detergente neutro (%FDN) y la energía metabolizable (EM). Además, se sabe que las ecuaciones de predicción son útiles, sin embargo, los supuestos y condiciones que deben lograrse para cada ecuación limita su capacidad de predicción de la emisión de CH<sub>4</sub>, particularmente bajo condiciones de pastoreo (IPCC 2007, Cambra-López *et al.* 2008).

#### **b. Intensidad de emisión de metano entérico**

La intensidad de emisión diaria de CH<sub>4</sub> por GDP (g CH<sub>4</sub>/Kg GDP) (P<0.0833) no difirió entre periodos de estudio (Cuadro 6). Los toretes durante el periodo de menor precipitación pluvial presentaron mayor ganancia diaria promedio de peso vivo de 860 ± 130 g/día que durante el periodo de mayor precipitación pluvial de 659 ± 70 g/día, ocasionado que la intensidad de emisión fuera similar entre ambos periodos de estudio con 357.7 ± 85.2 y 482.7 ± 112.6 g CH<sub>4</sub>/Kg GDP. Los valores de emisión e intensidad de metano de ambos periodos de precipitación pluvial fueron similares a lo observado por Kurihara *et al.* (1999) quienes determinaron emisiones de metano con vaquillas Brahman con pesos iniciales de 300–350 y utilizando heno de dos forrajes tropicales con características fenológicas y nutricionales contrastante el pasto Angleton madura (*Dicanthium aristatum*) y pasto Rhodes inmadura (*Chloris gayana*) y obtuvieron emisiones de 113 y 257 g de CH<sub>4</sub>/día e intensidades de 500.4 g CH<sub>4</sub>/ kg GPD, respectivamente. Por lo que esos autores señalan que existe una asociación de tipo curvilíneo entre ganancia de peso y producción de metano y una asociación lineal entre la relación alimento: ganancia y la producción de metano, así como, lineal entre el consumo de materia seca respecto a la producción de metano, sugiriendo, que con dietas que posibiliten una respuesta animal alta en términos de ganancia de peso, la producción de metano es menor.

Las intensidades de emisión en ambos periodos fueron superiores a lo mencionado por Esteves *et al.* (2010), quienes observaron que la emisión de metano para los tres años en estudio de fue 104, 104 y 123 g CH<sub>4</sub>/día y una intensidad de emisión de 160, 178 y 278 g

CH<sub>4</sub>/ kg GDP, respectivamente. Para este estudio utilizaron toretes de 24 meses de edad y peso vivo de 358.7 kg de la raza Nellore, Canchin y sus cruces, bajo sistemas de pastoreo extensivo en el pasto *Bracharia decumbens*, en estado de degradación, Marandu (*Urochloa brizantha* (Hochst ex A. Rich.) Stapf cv Marandu) y Piatã (*Urochloa brizantha* (Hochst ex A. Rich.) Stapf cv Piatã). Superiores a lo encontrado por Nguyen y Hegarty (2017) que midieron los efectos del destilado dietético de aceite de coco sobre la producción de metano de las vaquillas Brahman (280 kg de PV) observaron una emisión de 109.5 g CH<sub>4</sub>/día y una intensidad de 223.0 g CH<sub>4</sub>/kg GDP.

La intensidad de emisión observado durante el periodo de mayor precipitación pluvial fue superior a lo observado por Neto *et al.* (2015) quienes evaluaron las emisiones de metano de toretes Nellore en crecimiento (250.69 kg de PV) alimentados con el pasto Brizantha *Bracharia brizantha* cv. Xaraés durante la temporada lluviosa, observaron una emisión de 120 g CH<sub>4</sub>/día y una intensidad de 257.8 g CH<sub>4</sub>/kg GDP. Pero similares a los reportado por De Andrade *et al.* (2014), mientras que el periodo de menor precipitación pluvial fue superior. Ellos evaluaron las emisiones de metano entérico en toretes Charolais (213 kg de PV) al pastoreo del pasto Elefante enano (*Pennisetum purpureum* cv. BRS Kurumi) solo o asociado con maní forrajero (*Arachis pintoi* cv. Amarillo) y obtuvieron emisiones de 146 y 180 g CH<sub>4</sub>/día e intensidades de 254 y 230 g CH<sub>4</sub>/kg de GDP, respectivamente. La intensidad de emisión de metano entérico (g CH<sub>4</sub>/ kg GDP) observado durante el periodo de menor precipitación pluvial fue superior a lo reportado por Carvalho *et al.* (2016) quienes evaluaron, el efecto de diferentes fuentes de lípidos en el rendimiento y la emisión de CH<sub>4</sub> de toretes Nellore (442 kg PV) que pastoreaban una pastura de *Bracharia brizantha* cv. Xaraés., en la estación seca de Jaboticabal, SP, Brazil observaron en los animales sin suplementación de lípidos una emisión de 114 g CH<sub>4</sub>/día; de 1.12 g CH<sub>4</sub>/ kg PV<sup>0.75</sup> y 0.24g CH<sub>4</sub>/d/kg PV, y una intensidad de emisión de 240 g CH<sub>4</sub>/kg GDP.

En el presente trabajo la alta emisión de metano por animal por día está relacionada con los altos niveles de fibra, sin embargo, la mayor ganancia diaria promedio de peso de los toretes durante el periodo de menor precipitación pluvial generaron una menor intensidad de emisión de metano entérico, posiblemente por el mayor consumo de materia orgánica proteína cruda y energía digestible, pero que resultaron insuficientes para ser superiores a la intensidad observada durante el periodo de mayor precipitación pluvial. Así mismo, la relación entre el contenido de PC y DMO no fue adecuada para la degradación celulolítica a

nivel ruminal. Poppi y McLennan (1995) señalan que para permitir una adecuada degradación celulolítica a nivel ruminal debe de existir una relación óptima entre el contenido de PC y la DMO de la pastura de 210 g PB/kg MOD. El nivel mínimo de proteína de la pastura para el periodo de menor precipitación pluvial fue de 207 g PB/kg MOD, relación muy cerca del valor mínimo pero que resultó insuficiente. Por lo que, Carmona *et al.* (2005) menciona que un incremento en la calidad de la dieta constituye el método probado y el más práctico para reducir la producción de metano.

#### **4.2.2 Emisión de metano por unidad de consumo y rendimiento de metano entérico**

El consumo de forraje, emisión de metano entérico por unidad de consumo y rendimiento de metano entérico generado por toretes al pastoreo fueron diferentes entre ambos periodos (Cuadro 6). El periodo de menor precipitación pluvial presentó mayor consumo promedio de MO ( $P < 0.0379$ ), PC ( $P < 0.0001$ ), FDN ( $P < 0.0198$ ), FDA ( $P < 0.0417$ ) y ED ( $P < 0.0189$ ) que el periodo de mayor precipitación pluvial. Sin embargo, en el periodo de mayor precipitación pluvial fue mayor el CMSPV ( $P < 0.0115$ ) que el periodo de menor precipitación pluvial. Mientras que el CMS ( $P = 0.0508$ ) fue similares entre los dos periodos de estudio.

El CMS promedio (9.5 kg MS/animal/día) de ambos periodos fue similar al reportado por Jado (2015) de 10.0 kg/animal/día de toretes Nellore que consumieron una dieta forrajera con 13% de PC. Sin embargo, resultó superior al reportado por Da Cruz (2000) que determinó un consumo promedio de 7.4 kg MS/animal/día. El CMS observado en el presente estudio de la pastura seleccionada durante el periodo de mayor precipitación pluvial a pesar del menor contenido de PC se debió a la alta asignación de forraje (Lombardo 2005), así como al menor contenido de FDN y FDA. Van Soest (1994) menciona que cuando el contenido de PC en la pastura se encuentran cercanos al siete por ciento el CMS se incrementa linealmente básicamente para cubrir los requerimientos mínimos de PC del animal y de esta manera asegurar la menor actividad ruminal.

El CMS observado durante el periodo de menor precipitación pluvial, a pesar de tener los animales mayor consumo de PC, el mayor consumo de FDN y FDA influenciaron de manera más determinante y negativa sobre el CMS de la pastura, lo cual es corroborado por Moore y Hatfield (1994), quienes observaron un mayor impacto en el consumo de forrajes y la digestibilidad en alimentos de baja calidad por efecto de un mayor consumo de fibra. Así



mismo, al análisis de la relación óptima entre el contenido de PC y la DMO de la pastura según lo recomendado por Poppi y McLennan (1995) el contenido de PC de la pastura seleccionada están por debajo del valor mínimo requerido para una óptima degradación celulolítica a nivel ruminal.

**Cuadro 6: Efecto del periodo de precipitación pluvial sobre el consumo de forraje, emisión de metano entérico por unidad de consumo y rendimiento de metano por toretes al pastoreo**

| Variable   | Periodo                          |                                  | P-valor              |
|--|----------------------------------|----------------------------------|----------------------|
|  | Mayor precipitación <sup>1</sup> | Menor precipitación <sup>2</sup> |                      |
| <i>Consumo de la pastura seleccionada</i>              |                                  |                                  |                      |
| CMO (kg/animal/día)                                    | 6.7 ± 0.3                        | 7.4 ± 0.4                        | 0.0379 <sup>3</sup>  |
| CMS (kg/animal/día)                                    | 8.9 ± 0.4                        | 9.7 ± 0.5                        | 0.0508 <sup>3</sup>  |
| CMSPV (kg MS/100 kg del PV)                            | 3.3 ± 0.1                        | 2.8 ± 0.1                        | 0.0115 <sup>3</sup>  |
| CPC (kg/d)   | 0.9 ± 0.04                       | 1.2 ± 0.06                       | <0.0001 <sup>3</sup> |
| CFDN (kg/d)  | 6.1 ± 0.3                        | 6.8 ± 0.3                        | 0.0198 <sup>3</sup>  |
| CFDA (kg/d)  | 3.4 ± 0.2                        | 3.7 ± 0.2                        | 0.0417 <sup>3</sup>  |
| CED (Mj/d)   | 93.9 ± 5.3                       | 108.2 ± 3.2                      | 0.0189 <sup>3</sup>  |
| <i>Emisión de metano entérico por unida de consumo</i> |                                  |                                  |                      |
| g/Kg MSC   | 20.3 ± 0.8                       | 31.1 ± 1.3                       | <0.0001 <sup>3</sup> |
| g/Kg MOC   | 27.0 ± 1.1                       | 40.9 ± 1.7                       | <0.0001 <sup>3</sup> |
| g/Kg FDNC  | 29.7 ± 1.2                       | 44.5 ± 1.9                       | <0.0001 <sup>3</sup> |
| <i>Rendimiento de metano entérico</i>                  |                                  |                                  |                      |
| Ym (%) <sup>3</sup>                                    | 7.1 ± 0.3                        | 10.6 ± 0.4                       | <0.0001 <sup>3</sup> |

<sup>1</sup>Corresponde al último mes del periodo de mayor precipitación pluvial. <sup>2</sup>Corresponde al último mes del periodo de menor precipitación pluvial. <sup>3</sup>P-valor <0.05 en la misma fila indican diferencias significativas entre sí a la prueba t-student para muestras pareadas; g: gramo; CH<sub>4</sub>: metano, kg. kilogramo, PV: peso vivo; PV<sup>0.75</sup>: peso metabólico; MSC: materia seca consumida; MOC: materia orgánica consumida; FDNC: fibra detergente neutra consumida; YM (%): Factor de conversión de CH<sub>4</sub>, expresado como la fracción de la energía bruta (EB) del alimento que se transforma en metano. <sup>3</sup>Considerando 55.6KJ/g CH<sub>4</sub>; 1Kcal=4.184Kj.

El CMSPV fue mayor durante el periodo de mayor precipitación pluvial (P<0.0115) que el periodo de menor precipitación pluvial. El CMSPV de ambos periodos fue superior al valor reportado por Canesin (2009) de 2.1 kg MS/100 kg del PV quien realizo un ensayo para evaluar el CMS de toretes mantenidos en una pastura de *Brachiaria brizantha* cv Marandu. El consumo expresado como porcentaje del PV es una medida ampliamente utilizada y en el ganado no lechero y el MINAM (2016) para elaborar los inventarios de gases de efecto

invernadero utilizó un valor de 2.5 % para estimar el CMS. El menor CMSPV observado durante el periodo de menor precipitación pluvial en comparación al de mayor precipitación posiblemente fue influenciada por que los toretes en el periodo de menor precipitación tuvieron mayor demanda nutricional para mantenimiento debido a la edad y peso vivo de los animales que fue superior que en la estación lluviosa. León-Velarde *et al.* (2006) señalan que el CMSPV presenta una tendencia a disminuir en función al peso vivo del animal, es decir, a mayor peso vivo disminuye en su consumo.

El CED fue mayor en el periodo de menor precipitación ( $P < 0.0189$ ) con relación al periodo de mayor precipitación. Sin embargo, los valores observados de CED de 93.9 y 108.2 Mj/día y la concentración de energía digestible de 10.6 y 11.1 Mj/kg MS, respectivamente tanto en el periodo de mayor y menor precipitación pluvial se encuentran de acuerdo con el promedio para mantenimiento y aumento de peso requerido para toretes *Bos indicus* en sistemas de pastoreo y condiciones tropicales, reportado por Mlay *et al.* (2006) y Valadares-Filho *et al.* (2010).

#### **a. Emisión de metano entérico por unidad de consumo**

La emisión de CH<sub>4</sub> por unidad de consumo de MS (g de CH<sub>4</sub>/ Kg de MSC) fue superior ( $P < 0.0001$ ) durante el periodo de menor precipitación pluvial con respecto al periodo de mayor precipitación pluvial (Cuadro 6, anexo 23). La emisión de CH<sub>4</sub>/kg MSC durante el periodo de mayor precipitación fueron similares a los reportado por De Andrade *et al.* (2014) de 22.9 y 25.3 g CH<sub>4</sub>/kg de MSC, observado en toretes Charolais (213 kg de PV) al pastoreo del pasto *Pennisetum purpureum* cv. BRS Kurumi solo o asociado con *Arachis pintoii* cv. Amarillo. Sin embargo, el resultado del periodo de menor precipitación fue superior con relación a este mismo estudio. Mientras que, inferior a lo obtenido por Ramírez-Restrepo *et al.* (2015) de 25.3 g CH<sub>4</sub>/ Kg CMS medidos en vaquillas (9.6 meses de edad y 183 kg PV). En cuanto al periodo de mayor precipitación, la emisión de metano de CH<sub>4</sub>/ Kg CMS fue inferior a lo reportado Fitzsimons *et al.* (2013) de 38 g CH<sub>4</sub>/kg MSC cuando evaluaron vaquillas de carne Simmental (449 kg de PV) pero similar al compáralo con el periodo de menor precipitación. La emisión de CH<sub>4</sub>/Kg de MSC durante el periodo de menor precipitación pluvial fue inferior al observado por Demarchi *et al.* (2003) de 46,7g CH<sub>4</sub>/kg CMS por toretes de la raza Brahman durante la evaluación en la estación de verano. Mientras que la emisión de CH<sub>4</sub>/Kg de MSC en ambos periodos fueron superiores a lo encontrado por Nguyen y Hegarty (2017) de 22.63 g CH<sub>4</sub>/kg MSC cuando midieron los efectos del destilado

dietético de aceite de coco sobre la producción de metano en vaquillas Brahman (280 kg de PV). De igual manera superior a lo reportado por Carvalho *et al.* (2016) de 9.51g CH<sub>4</sub>/kg MSC al evaluar en la estación seca la emisión de metano entérico por unidad de consumo de CH<sub>4</sub> en toretes Nellore (442 kg PV) que pastoreaban una pastura de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés.

La emisión de metano entérico por unidad de consumo de MO (g de CH<sub>4</sub>/ Kg de MOC) fue superior (P<0.0001) durante el periodo de menor precipitación pluvial con respecto al periodo de mayor precipitación pluvial (Cuadro 8). La emisión de metano entérico por unidad de consumo de MO de ambos periodos fueron inferiores a lo observado por Kurihara, *et al.* (1999) obtuvieron una producción de 75.5 y 64.6 de g CH<sub>4</sub>/ kg MOC en los animales que consumieron heno del pasto Angleton y del pasto Rhodes, respectivamente. Mientras que la emisión de metano entérico por unidad de consumo de CH<sub>4</sub>/Kg MOC durante el periodo de mayor precipitación pluvial, es menor a lo obtenido por Demarchi *et al.* (2003) de 35.3g de CH<sub>4</sub>/Kg de MOC. Por su parte, la emisión de metano entérico por unidad de consumo MO del periodo de menor precipitación pluvial presento mayor emisión de CH<sub>4</sub> entérico. Mientras tanto la emisión de CH<sub>4</sub>/kg MSC y CH<sub>4</sub>/kg MOC durante el periodo de mayor precipitación pluvial fueron similares a Pedreira *et al.* (2009), sin embargo, los resultados del periodo de menor precipitación pluvial fueron superiores, quienes cuantificaron las tasas de emisión de metano (CH<sub>4</sub>) de vaquillas Cruce lechero brasileño (¾ Holstein x ¼ Gir (Cebú)) al pastoreo extensivo en pasto *Brachiaria (Brachiaria decumbens* cv. Basilisk ) no fertilizado bajo condiciones tropicales del sudeste de Brasil y observaron emisiones de 13.5 y 16.7 g CH<sub>4</sub>/kg MSC y 14.5 y 18.0 g CH<sub>4</sub>/kg MOC, respectivamente.

La emisión de CH<sub>4</sub> por unidad de FDNC (g CH<sub>4</sub>/ kg FDNC) fue superior(P<0.0001) en el periodo de menor precipitación pluvial con respecto al periodo de mayor precipitación pluvial. Estas emisiones de CH<sub>4</sub>/ kg FDN de cada periodo fueron menores a los evaluados por Canesin (2009) para lo cual, reportan una producción de 42.86 gCH<sub>4</sub>/ kg FDN en septiembre y de 76.40 g CH<sub>4</sub>/kg FDN en noviembre, respectivamente. Sin embargo, al compáralos con los reportes de Demarchi *et al.* (2003) la producción de metano por unidad de FDN consumida (39,7 g CH<sub>4</sub>/kg de FDNC), superior a la producción observada durante el periodo de mayor precipitación pluvial de 28.6 g CH<sub>4</sub>/Kg de FDNC y menor a la producción encontrada durante el periodo de menor precipitación pluvial (43.2 g CH<sub>4</sub>/Kg FDNC), atribuyeron que las mayores emisiones de CH<sub>4</sub> entérico por unidad de consumo fue

ocasionado por el mayor contenido de FDN que se da en las pasturas tropicales durante la estación de verano que ocasionan una menor digestibilidad de los componentes de la fibra. Así mismo, superiores a lo observado por Tomkins *et al.* (2015) que realizaron un ensayo en toretes Brahman (226 kg de PV) alimentados con heno de pasto Rhode (*Chloris gayana*) de calidad media a y obtuvieron rendimientos de 14.6 g CH<sub>4</sub>/kg MSC y 16.0 g CH<sub>4</sub>/kg MOC y 21.2 g CH<sub>4</sub>/kg de FDNC, respectivamente. De igual manera, la emisión de CH<sub>4</sub>/kg MSC y CH<sub>4</sub>/kg FDNC durante ambos periodos fueron superiores a lo observado por Fiorentini *et al.* (2014) que evaluaron la emisión entérica de CH<sub>4</sub> de toretes Nellore (419 kg de PV) observaron emisiones de 17.1g CH<sub>4</sub>/kg MSC y 52.2 gCH<sub>4</sub>/kg FDNC. De igual manera, superiores a lo observado por Neto *et al.* (2015) de 15.4g CH<sub>4</sub>/kg MSC; 29.4 g CH<sub>4</sub>/kg FDNC, quienes evaluaron las emisiones de metano de toretes Nellore en crecimiento (250.69 kg de PV) alimentados con *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés

El consumo de MS fue similar en ambos periodos, no obstante, se observó mayores emisiones de metano entérico por unidad de consumo durante el periodo de menor precipitación pluvial con relación al periodo de mayor precipitación pluvial. Sin embargo, el consumo de MO, PC, FDN, FDA y ED fueron mayores durante el periodo de menor precipitación pluvial, por lo que, las mayores emisiones de metano observados durante el periodo de menor precipitación pluvial son atribuidas a la calidad de dieta que al factor cantidad de alimento consumido (Blaxter y Clapperton 1965; Jonker *et al.* 2017) generados por el mayor consumo de FDN y FDA (Minson 1977; Van Soest 1994). Diferentes estudios señalan que la variación del CMS tan solo aporta un 14% a la variación en la producción de metano, además presenta una baja correlación de entre la MSC ( $r^2=37\%$ ) y la producción de CH<sub>4</sub> (g/día) (Lassey *et al.* 1997). Por lo que, Demarchi *et al.* (2016) indican que muchas de las fórmulas de predicción de CH<sub>4</sub> entérico en base al CMS presentan reportes con altas variaciones que no pueden ser explicadas por sí mismos, y, muchas de esas variaciones en la emisión de metano entérico provienen de la fermentación de la fibra

Dall-Orsoletta *et al.* (2016) observaron que los animales que presentan similares consumos de materia seca produjeron diferentes emisiones de CH<sub>4</sub> debido principalmente al efecto del contenido de FDN. La concentración de FDN es heterogénea con respecto a la composición química, digestibilidad y por ende diferente potencial para producir CH<sub>4</sub> (Moe y Tyrrell 1979). Sin embargo, la influencia significativa que ejerce la digestión de la fibra en la emisión de CH<sub>4</sub> es ampliamente conocida, por lo que, en términos generales, las dietas con

mejor contenido nutricional y más digestibles tienen una menor producción de metano (Boadi y Wittenberg 2002), por lo que, la mayor emisión de metano ocurrido durante el periodo de menor precipitación pluvial, a pesar de presentar buenas concentraciones de proteína cruda podría atribuirse a la tendencia en la caída de la calidad de la dieta al incrementarse el contenido de material lignocelulósico a medida que la edad de pastoreo aumenta (Montenegro y Abarca 2000).

Johnson y Johnson (1995) señala que las diferencias en las producciones de metano estaría a nivel de los constituyentes de la pared celular en cuanto a la relación hemicelulosa/celulosa, aún en alimentos con similar digestibilidad del FDN. Ellos observaron que los granos de destilería producen la mitad o la tercera parte de CH<sub>4</sub>/kg MSC, debido a su alta digestibilidad de la FDN en comparación con forrajes con similar digestibilidad de la FDN. Esos autores señalan que los componentes que conforman la FDN, podrían explicar las diferencias en las producciones de metano, debido a que los granos de destilería, tienen una alta relación hemicelulosa/celulosa (1.5-1.6/1) en comparación con las gramíneas (0.67/1) y leguminosas (0.35/1). Asimismo, Moe y Tyrrell (1979) basándose en esas observaciones, estimaron que la hemicelulosa al degradarse en el rumen produce 37 por ciento menos CH<sub>4</sub> que la degradación de la celulosa. Lo cual coincide con lo manifestado por Dall-Orsoletta *et al.* (2016) quienes reportan que animales que tuvieron similares consumos de materia seca presentaron diferentes emisiones de CH<sub>4</sub> debido principalmente al efecto del contenido de FDN y sus constituyentes.

La mayor disponibilidad y consumo de las gramíneas constituye otro factor para tener en cuenta en la mayor emisión de metano entérico observado durante el periodo de menor precipitación pluvial. Por lo que, Jung y Allen (1995) manifiestan que las gramíneas presentan mayor contenido de pared celular que las leguminosas, lo que las hace menos digeribles propiciando una mayor producción de metano (Barahona y Sánchez 2005; Kasuya y Takahashi 2010) y que el consumo de las leguminosas Kudzu y Calopo (22% en promedio), las cuales solo estuvieron presente en la pastura durante el periodo de menor precipitación pluvial no fue suficiente para ejercer un efecto inhibitor sobre la metanogénesis. Lee *et al.* (2004) observó que en asociaciones de gramíneas – leguminosa, una presencia menor al 30 % en la mezcla por parte de la leguminosa no reduce la emisión de metano. Así mismo, Hess *et al.* (2003) y Tiemann *et al.* (2008) realizaron estudios con leguminosas y gramíneas de climas tropicales y reportaron que la inclusión de leguminosas

en proporciones crecientes y encontraron una relación lineal positiva entre la inclusión de leguminosa y la producción de metano por unidad de materia orgánica y FDN fermentada respecto a gramíneas, lo cual lo asociaron a una mayor degradabilidad de los nutrientes.

El contenido de FDN y FDA, en la pastura seleccionada presentó una tendencia a incrementarse con los días de ocupación de los animales (9 días) , mientras que el contenido de PC presento un comportamiento contrario, de igual forma el contenido de hojas descendió significativamente y la fracción tallo también descendió pero en menor magnitud, mientras que el material senescente presentó una mayor tendencia de acumulación con el transcurrir de los días de ocupación siendo más notable durante el periodo de menor precipitación pluvial, este mismo comportamiento fue señalado por Otoyá (1986) quien realizó un estudio con la finalidad de determinar el efecto del periodo de precipitación pluvial durante el año y los días de ocupación sobre la calidad nutritiva del pasto *Brachiaria decumbens* y observó diferencias en la calidad nutritiva y utilización de la pastura por efecto del periodo de mayor y menor precipitación pluvial, así como entre los días de ocupación. Asimismo, observó una alta selectividad de los animales en pastoreo por las partes de la planta con mayor valor nutritivo.

Kurihara *et al.* (1999) manifiestan que la alta producción de metano en forrajes tropicales está directamente relacionada con los altos niveles de fibra y de lignina, y a su baja digestibilidad, y a medida que aumenta la madurez de la planta y el proceso de lignificación se acentuó, genera que disminuya su digestibilidad, por lo que la emisión de metano aumentará. Aguerre *et al.* (2011) encontraron que por cada gramo de FDN consumido se emite 10.3 gramos de CH<sub>4</sub>, y, Pinares-Patiño *et al.* (2003b) y Kasuya y Takahashi (2010), reportan una alta correlación entre la producción de CH<sub>4</sub> y la FDN consumida (kg/d) ( $r=0,73$  y  $0,99$ ;  $p<0,01$ , respectivamente).

### **c. Rendimiento de metano entérico**

El rendimiento de metano (Y<sub>m</sub> %) o factor de conversión de CH<sub>4</sub> que expresa la fracción de la energía bruta (EB) del alimento que se transforma en metano, fue mayor durante el periodo de menor precipitación pluvial (10.5%,  $P<0.0001$ ) en comparación del periodo de mayor precipitación (6.8%), Los valores de Y<sub>m</sub> (%) de ambos periodos son superiores a los valores de Y<sub>m</sub> de 6.38, 5.35 y 4.67% reportado por Primavesi *et al.* (2003) a cálculos de emisión de metano y consumo de energía bruta en vaquillas cruces de Holstein x Cebú manejadas al

pastoreo. Así mismo, el Ym (%) observado durante el periodo de mayor precipitación es inferior a la reportado por Primavesi *et al.* (2004) quien determinó valores de Ym de 9.6 para las vaquillas cruces de Holstein x cebú manejadas en un sistema extensivo con fertilización de la pastura, y un Ym de 7.8% para las vaquillas cruce de manejadas en sistema extensivo sin fertilización. Los resultados obtenidos de rendimientos de metano del presente estudio se encuentran dentro del rango de pérdida 2 a 12 % (Johnson y Johnson 1995). Así mismo, coinciden con Harper *et al.* (1999) quienes señalan un Ym de 10% bajo condiciones de pastoreo y en pasturas tropicales, valor superior al calculado para el periodo de mayor precipitación (6.8%), pero similar con respecto al periodo de menor precipitación pluvial (10.5%). Sin embargo, el valor promedio de rendimiento de metano de 8.7% (6.8 – 10.5%) es ligeramente superior a lo indicado por Johnson y Johnson (1995) quienes señalan un Ym general de 8,2% para condiciones de pastoreo. Sin embargo, estos valores son superiores a los sugeridos por el IPCC (2006) que utiliza un factor de emisión por defecto de 6.5% para ganado no lechero en pastoreo.

Hindrichsen *et al.* (2006) mencionan que la proporción de EB que se pierde en forma de CH<sub>4</sub> es más afectada por la composición nutricional del alimento que por la cantidad de alimento, situación observada en nuestro trabajo, que durante ambos periodo de precipitación pluvial, la pastura seleccionada presentó altos contenidos de FDN y FDA, los mismo que presentaron una tendencia a aumentar con el paso de los días de pastoreo (anexo 5), lo cual también es corroborado por Ramírez-Restrepo y Barry (2005) quienes manifiestan que también existe diferencias de pérdidas de energía bruta ingerida como CH<sub>4</sub> en función del tipo de forraje. Por lo que, Clark *et al.* (2005) señalan que los animales alimentados con forrajes tropicales y que presentan mayor contenido de carbohidratos estructurales producen más CH<sub>4</sub> por unidad de energía bruta consumida (>8%). En ese mismo sentido, Montenegro y Abarca (2000) encontraron en un ensayo con dos gramíneas de clima tropical que la emisión de CH<sub>4</sub> presenta una tendencia a incrementarse a medida que la edad de pastoreo se aumenta, debido al aumento en el contenido de material lignocelulósico. Moe y Tyrrell (1979), manifiestan que los carbohidratos estructurales producen una mayor emisión de metano cuando la relación ácido acético: propiónico es amplia, que ocasiona una menor digestibilidad lo cual es producto del proceso de lignificación que se acentúa con la madurez de la planta (FAO 2013b). La lignina y los ácidos fenólicos se acumulan y forman enlaces mixtos e insolubles con los polisacáridos de la pared celular limitando de esta manera la degradación de estos carbohidratos por los microorganismos presentes en el ecosistema ruminal (Jung y Allen 1995).

## V. CONCLUSIONES

1. La emisión de metano entérico fue de  $296.7 \pm 10.9$  g CH<sub>4</sub>/día siendo mayor en el último mes del periodo de menor precipitación pluvial con respecto al último mes del periodo de mayor precipitación pluvial de  $176.5 \pm 8.9$  g CH<sub>4</sub>/día debido a las diferencias de la pastura.
2. Los toretes durante el último mes del periodo de menor precipitación pluvial presentaron mayor ganancia diaria promedio de peso vivo de  $860 \pm 130$  g/día que durante el último mes del periodo de mayor precipitación pluvial de  $659 \pm 70$  g/día, ocasionando que la intensidad de emisión fuera similar ( $P > 0.05$ ) entre ambos periodos de estudio con  $357.7 \pm 85.2$  y  $482.7 \pm 112.6$  g CH<sub>4</sub>/Kg ganancia diaria promedio.
3. La emisión de metano entérico por unidad de consumo de materia orgánica  $40.9 \pm 1.7$  g CH<sub>4</sub>/Kg y fibra detergente neutra de  $44.5 \pm 1.9$  g CH<sub>4</sub>/Kg fueron mayores en el último mes del periodo de menor precipitación pluvial con respecto al último mes del periodo de mayor precipitación pluvial de  $26.3 \pm 0.5$  y  $27.0 \pm 1.1$  g CH<sub>4</sub>/Kg de materia orgánica y fibra detergente neutra consumida debido a las diferencias de la pastura durante el último mes del periodo de menor precipitación pluvial.
4. El rendimiento de metano (Y<sub>m</sub> %) o factor de conversión de metano entérico que expresa la fracción de la energía bruta del alimento que se transforma en metano, fue mayor durante el último mes del periodo de menor precipitación pluvial ( $10.5 \pm 0.5\%$ ) en comparación del último mes del periodo de mayor precipitación pluvial ( $6.8 \pm 0.1\%$ ).



## **VI. RECOMENDACIONES**

1. Realizar estudios similares con la técnica del trazador SF<sub>6</sub> tomando en consideración más meses dentro de cada periodo de mayor y menor precipitación pluvial para contrastar e inferir mejor las emisiones de metano entérico.
2. Implementar prácticas de manejo en las pasturas que mejoren su calidad nutricional, incrementen la productividad y mejoren la eficiencia de utilización de la energía de los alimentos, por ser la mejor estrategia para mitigar la emisión de metano entérico.
3. Desarrollar ecuaciones de predicción de emisión de metano entérico para nuestra realidad ganadera en base al consumo de materia seca y calidad de la dieta (contenido de PC, FDN y digestibilidad de la materia orgánica).

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agilent Technologies. 2010. Guía de selección de columnas Agilent J&W para GC. <https://www.agilent.com/cs/library/selectionguide/Public/5990-5488ES.pdf>
- Aguerre, M. J.; Wattiaux, M. A.; Powell, J. M.; Broderick, G. A.; Arndt, C. 2011. Effect of forage-to-concentrate ratio in dairy cow diets on emission of methane, carbon dioxide, and ammonia, lactation performance, and manure excretion. *J. Dairy Sci.*, 94:3081-3093.
- Alvarado, B. V. 2018. Emisión de metano entérico de vacas en lactación con pastos cultivados en zona altoandina estación lluviosa y seca. Tesis Magister Scientiae Nutrición. Universidad Nacional Agraria La Molina. 81p.
- Anderson, K. L.; Nagaraja, T.G.; Morrill, J.L.; Avery, T.B.; Galitzer S. J.; Boyer, J. E. 1987. Ruminant microbial development in conventionally or early-weaned calves. *J. Anim. Sci.*, 64: 1215-1226.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists, USA). 2006. of the Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Virginia, USA. 770-771.
- Aquino, S. 1987. Rendimiento y composición del pasto Camerún *Echinochloa polystachya* en Tingo María. Tesis para optar el título de Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 58p.
- Araujo, F. O. 2005. Factores que afectan el consumo voluntario en bovinos a pastoreo en condiciones tropicales. IX Seminario de pastos y forrajes. Departamento de Zootecnia, Facultad de Agronomía. Maracaibo, Venezuela, 1-12

- Arbre, M.; Rochette, J.; Guyader, C.; Lascoux, L.; Gómez, M.; Eugène, D.; Morgavi, G.; Renand, M.; Doreau, M.; Martin, C. 2016. Repeatability of enteric methane determinations from cattle using either the SF<sub>6</sub> tracer technique or the GreenFeed system. *Anim. Prod. Sci.* 56:238–243. <https://doi.org/10.1071/AN15512>
- Arce, C.; Arbaiza, T.; Carcelén, F.; y Lucas, O. 2003. Estudio comparativo de la digestibilidad de forrajes mediante dos métodos de laboratorio. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 14(1): 07-12.
- Arévalo, L.; Alegre, C.; Bandy, D.; Szott, L. 1998. The effect of cattle grazing on soil physical and chemical properties in a silvopastoral system in the Peruvian Amazon. *Agroforestry System* 40(2): 109 -124.
- ASRM (American Society of Range Management and Agriculture Board, USA). 1962. Basic Problems and Techniques in Range Research. Report of a Joint Committee of the American Society of Range management and Agriculture Board. 890: 45-81.
- ASTM (American Society for Testing and Materials, USA). 2015. Standards for bomb calorimetry and combustion methods. Philadelphia, Pa., U.S.A.
- Attwood, G.; McSweeney, C. 2008. Methanogen genomics to discover targets for methane mitigation technologies and options for alternative H<sub>2</sub> utilization in the rumen. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48: 28-37.
- Austin, D.; Urnes, P.; Fierro, L. 1983. Spring Livestock grazing affect crested wheatgrass Regrowth and Winter use by Mule deer, *Journal of Range Management*. 36: 589-593p.
- Barahona, R. y Sánchez S. 2005. Limitaciones físicas y químicas de la digestibilidad de pastos tropicales y estrategias para aumentarla. *Revista CORPOICA*. 6(1), 69-82.
- Batista, C.; Detmann, E.; Neves, T.; Augusto, M.; Valadares, S.; Fonseca, M. 2011. Evaluation of fecal recovering and long-term bias of internal and external markers in a digestion assay with cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 40(1):174-182.
- Beauchemin, K.; Kreuzer, M.; O'Mara, F.; McAllister, T. 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 48: 21-27.

- Bedoya-Mazo, S.; Noguera, R. R.; Posada, S. L. 2016. Efecto de la especie donadora de inóculo ruminal sobre la degradación de la materia seca y producción de metano *in vitro*. *Livestock Research for Rural Development*, 28, 86.
- Benchaar, C.; Pomar, C.; Chiquette, J. 2001. Evaluation of dietary strategies to reduce methane production in ruminants: A modelling approach. *Canadian Journal Animal Science*. 81: 563-574.
- Berndt, A.; Boland, T.; Deighton, M.; Gere, J.; Grainger, C.; Hegarty, R.; Iwaasa, A.; Koolaard, J.; Lassey, K.; Luo, D.; Martin, R.; Martin, C.; Moate, P.; Molano, G.; Pinares-Patiño, C.; Ribaux, B.; Swainson, N.; Waghorn, G.; Williams, S. 2014. Guidelines for use of sulphur hexafluoride (SF<sub>6</sub>) tracer technique to measure enteric methane emissions from ruminants. M. G. Lambert, ed. *New Zealand Agricultural Greenhouse Gas Research Centre, New Zealand*. Pag. 166.
- Bhatta, R.; Enishi, O.; Takusari, N.; Higuchi, K.; Nonaka, I.; Kurihara, M. 2008. Diet effects on methane production by goats and a comparison between measurement methodologies. *J. Agric. Sci.*, v.146, p. 705–715.
- Bhatta, R.; Tajima, K.; Takusari, N.; Higuchi, K.; Enishi, O.; Kurihara, M. 2006. Comparison of sulfur hexafluoride tracer technique, rumen simulation technique and *in vitro* gas production Techniques for methane production from ruminant feeds. *Int. Congr. Ser.*, v.1293, p. 58–61.
- Blas, C.; García-Rebollar, P.; Cambra-López, M.; Torres, A. 2008. Contribución de los Rumiantes a las emisiones de gases con efecto invernadero [En línea]. 10 de marzo de 2019. <http://www.produccion-animal.com.ar/sustentabilidad/89-gases.pdf>.
- Blaxter, K.; Clapperton, J. 1965. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *British Journal of Nutrition*. 19: 511-522.
- Boadi, D.; Wittenberg, K. 2002. Methane production from dairy and beef heifers fed forages differing in nutrient density using the sulphur hexafluoride (SF<sub>6</sub>) tracer gas technique. *Canadian Journal of 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 ( $\text{SF}_6$ ) tracer gas technique. *Canadian Journal of Animal Science*, 82(2):151-157.
- Boghun, J.; Baumgärtel, T.; Dieckmann, A.; Rodehutschord, M. 2009. Determination of titanium dioxide supplements in different matrices using two methods involving photometer and inductively coupled plasma optical emission spectrometer measurements. *Archives of Animal Nutrition*. 63(4): 337-342.
- Brandt, M.; Allam, S. 1987. Analytik von Titandi oxid im Darminhalt und Kot nach Kjeldahlaufschluß. *Archives of Animal Nutrition*. 37, 453-454.
- Buddle, B.; Denis, M.; Attwood, G.; Altermann, E.; Janssen, P.; Ronimus, R.; Pinares-Patiño, C.; Muetzel, S.; Wedlock, D. 2011. Review: Strategies to reduce methane emissions from farmed ruminants grazing on pastures. *The Vet Journal*, 188: 11-17.
- Cambra-López, M.; García-Rebollar, P.; Estelles, F.; Torres, A. 2008. Estimación de las emisiones de los rumiantes en España: el factor de conversión de metano. Revisión bibliográfica. *Archivos de Zootecnia*. 57: 89-101.
- Canesin, R. C. 2009. Frequência da suplementação de bovinos da raça Nelore mantidos em pastagens. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.
- Carabine, E.; Alberto, L. 2014. El Quinto Reporte de Evaluación del IPCC. ¿Qué implica para Latinoamérica? CDKN. Alianza Clima y Desarrollo y Overseas Development Institute (ODI). Ministry of Foreign Affairs of the Netherlands y UKAID from the British people.
- Carmona, J. C.; Bolívar, D. M.; Giraldo, L. A. 2005. El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 18(1), 49-63.
- Carvalho, I.; Fiorentini, G.; Berndt, A.; de Souza, P.; Duarte, J.; Shiraishi R.; Andrade, R.; Berchielli, T. .2016. Performance and methane emissions of Nelore steers grazing tropical pasture supplemented with lipid sources. *R. Bras. Zootec.*, 45(12):760-767.

- Chandramoni, S. B.; Jadhao, C. M.; Tiwari, C. M.; Khan, M. Y. 2000. Energy metabolism with Particular reference to methane production in Muzaffarnagari sheep fed rations in roughage to concentrate ratio. *Animal Feed Science and Technology*, 83: 287-300
- Church, C. 1970. Fisiología digestiva y nutrición de rumiantes. *Acribia* vol.1. Zaragoza España; 379 p.
- Church, D. 1990. Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. Ed. Limusa. Zaragoza, España. 438 p.
- Clark, H.; Kelliher, F.; Pinares-Patiño, C. 2011. Reducing CH<sub>4</sub> Emissions from Grazing Ruminants in New Zealand: Challenges and Opportunities. *Asian- Australasian Journal Animal Science*. 24: 295-302.
- Clark, H.; Pinares-Patiño, C.; De Klein, C. 2005. Methane and nitrous oxide emissions from grazed grasslands. In: McGilloway DA (ed). *Grassland: a global resource*. Wageningen, the Netherlands: Academic Publishers. 279-293 pág
- Close, W.; Menke, K. 1986. Selected topics in animal nutrition. A manual prepared for 2nd Hohenheim course on animal nutrition in the tropics and sub-tropics. P. 31-48.
- Corbett, J. L.; Freer, M. 1995. Ingestion et digestion chez les ruminants au pâturage. In: Jarrige, R., Ruckebusch, Y., Demarqilly, C., Farce, M.-H., Journet, M. (Eds.), *Nutrition des Ruminants Domestiques, Ingestion et Digestion*. INRA Publications, pp. 871–900.
- Cottle, D.; Nolan, J.; Wiedemann, S. 2011. Ruminant enteric methane mitigation: a review. *Animal Production Science*. 51: 491-514.
- Crutzen, P. J.; Aselmann, I.; Seiler, W. 1986. Methane production by domestic animals, wild ruminants, other herbivorous fauna, and humans. *Tellus*, 38 (B): 271-284.
- Da Cruz, W. 2000. Capacidad de carga y ganancia de peso de toretes cebuínos bajo pastoreo en (*Echinocloa polystachya*) en trópico húmedo. Tesis Magister Scientiae. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 56 p.
- Dall-Orsoletta, C.; Almeida, J.; Carvalho, P.; Savian, J.; Ribeiro-Filho H. 2016. Ryegrass pasture combined with partial total mixed ration reduces enteric methane emissions and maintains the performance of dairy cows during mid to late lactation. *J. Dairy Sci*. 99:1-10.

- Dämmgen, U.; Rösemann, C.; Haenel, H.; Hutchings, N. 2012. Enteric methane emissions from German dairy cows. *Agriculture and Forestry Research* 62, 21-32.
- De Andrade, E. A.; Ribeiro-Filho, H. M.; de Liz, D. M.; Miguel, M. F.; Raupp, G. T.; Ramos, F. R.; Almeida, E. X. 2014. Herbage intake, methane emissions and animal performance of steers grazing dwarf elephant grass with or without access to *Arachis pintoi* pastures. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 2(1): 4-5.
- Deighton, M.; Williams, S.; Hannah, M.; Eckard, R.; Boland, T.; Wales, W.; Moate, P. 2014. A modified Sulphur hexafluoride tracer technique enables accurate determination of enteric methane emissions from ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. 197: 47–63.
- Demarchi, J.; Lourenço, A.; Manella, M.; Alleoni, G.; Friguetto, R.; Primavesi, O.; Lima, M. 2003. Daily methane emission at different seasons of the year by Nelore cattle in Brazil grazing *Brachiaria brizantha* cv. Marandu – Preliminary results. IX World Conference on Animal Production and XVIII Reunião Latinoamericana de Produção Animal. 19 pág.
- Demarchi, J.; Manella, M.; Primavesi, O.; Frighetto, R.; Romero, L.; Berndt, A.; Lima, A. 2016. Effect of Seasons on Enteric Methane Emissions from Cattle Grazing *Urochloa brizantha*. *Journal of Agricultural Science*. 8(4):106-115.
- Deppenmeier, U. 2002. The unique biochemistry of methanogenesis. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* 71:223–283.
- DeRamus, H.; Clement, T.; Giampola, D.; Dickison P. 2003. Methane Emissions of Beef Cattle on Forages: Efficiency of Grazing Management Systems. *J. Environ. Qual.* 32:269–277.
- Detmann, E.; Paulino, M. F.; Zervoudakis, J. T.; Valadares Filho, S. D. C.; Lana, R. D. P.; Queiroz, D. 2001. Suplementação de novilhos mestiços durante a época das águas: parâmetros ingestivos e digestivos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30(4): 1340-1349.
- Di Rienzo, J. A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C.W. 2018. InfoStat versión 2018. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>

- Doreau, M.; Arbre, M.; Rochette, Y.; Lascoux, C.; Eugène, M.; and Martin, C. 2018. Comparison of 3 methods for estimating enteric methane and carbon dioxide emission in nonlactating cows. *Journal of animal science*, 96(4), 1559-1569.
- Ellis, J.; Kebreab, E.; Odondo, N.; McBride, B.; Okine, E.; France, J. 2007. Prediction of methane production from dairy and beef cattle. *Journal of Dairy Science*, 90: 3456–3467.
- Ellis, J.; Bannink, A.; France, J.; Kebreab, E.; Dijkstra, J. 2012. Evaluation of enteric methane prediction equations for dairy cows used in whole farm models. *Global Change Biology*. 16, 3246–3256.
- Escobar, C. P. 2016. Prediction of enteric methane production in beef cattle (Doctoral dissertation, University of Alberta). [En línea] 18 junio 2019 <https://era.library.ualberta.ca/items/9e852b84-3248-470b-8f4e-7e249c121905/download/a093a664-2151-498d-969a-25b00c0607a8>
- Esteves, S.N.; Bernardi, A.C.C.; Vinholis M.M.; Primavesi, O. 2010. Estimativas da emissão de metano por bovinos criados em sistema de integração lavoura-pecuária em São Carlos, SP. São Carlos: EMBRAPA. 2010. 7p. (Circular Técnica 65).
- Estrada, X.; Ibrahim, M.; Camero, A.; Abarca, S. e Hidalgo, C. 1998. Degradación ruminal de forrajes tropicales cuando se sustituye king grass *Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides* por Morera *Morus alba*. San José (CR): FAO. [En línea] 18 junio 2019. <http://www.fao.org/wairdocs/LEAD/X6320S/X6320S00.HTM>>
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, Italy). 2013a. Enfrentando el cambio climático a través de la ganadería. Una evaluación global de las emisiones y oportunidades de mitigación. [En línea] 25 de diciembre de 2017. <http://www.fao.org/3/a-i3437s.pdf>
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, Italy). 2013b. Mitigación de las emisiones de gases de efecto invernadero en la producción ganadera. Una revisión de las opciones técnicas para la reducción de las emisiones de gases diferentes al CO<sub>2</sub>. Editado por Pierre J. Gerber, Benjamin Henderson y Harinder P.S. Makkar. Producción y Sanidad Animal FAO Documento No. 177. FAO, Roma, Italia.



- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, Italy). 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.
- Fernández, C.; López, M.; Lachica, M. 2012. Description and function of a mobile open-circuit respirometry system to measure gas exchange in small ruminants. *Anim Feed Sci Technol.* 172:242–246
- Fiorentini, G.; Carvalho, I.; Messana, J.; Castagnino, P.; Berndt, A.; Canesin, R.; Frighetto R.; Berchielli, T. 2014. Effect of lipid sources with different fatty acid profiles on the intake, performance, and methane emissions of feedlot Nellore steers. *J. Anim. Sci.* 92:1613–1620.
- Fitzsimons, C.; Kenny, D. A.; Deighton, M. H.; Fahey, A. G; McGee, M. 2013. Methane emissions, body composition, and rumen fermentation traits of beef heifers differing in residual feed intake. *J. Anim. Sci.* 91:5789–5800.
- Flesch, T.; Wilson, J.; Harper, L.; Crenna, B. 2005. Estimating gas emission from a farm using an inverse dispersion technique. *Atmos Environ* 39:4863–4874.
- Flesch, T.; Wilson, J.; Harper, L.; Todd, R.; Cole, N. 2007. Determining ammonia emissions from a cattle feedlot with an inverse dispersion technique. *Agr Forest Meteorol.* 144:139–155.
- Flores, C. 2006. Efecto de la fertilización nitrogenada en pasturas de Camerún *Echinochloa polystachya* en degradación utilizadas al pastoreo en Tingo María. Tesis Ingeniero Zootecnista, Tingo María (Perú). Universidad Nacional Agraria de la Selva. 77 p.
- Flores, E. 1992. Manejo y evaluación de pastizales. Boletín divulgativo. Proyecto TTA. Instituto Nacional de Investigación Agraria y Agroindustrial, Fundación para el Desarrollo del Agro, Organización Nacional Agraria, Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. 27 pp.
- Flores, E. 1993. Applying the concept of feeding stations to the behavior of cattle grazing variable amounts of available forage. A Thesis of Master of Science. Utah State University.

- Forbes, J. 1995. Ruminant gastrointestinal tract. In: Voluntary food intake and diet selection in farm animals. Forbes, J. (Ed). CAB International, Wallingford. 40 p.
- Forster, P.; Ramaswamy, V.; Artaxo, P.; Berntsen, T.; Betts, R.; Fahey, D.; Haywood, J.; Lean, J.; Lowe, D.; Myhre, G.; Nganga, J.; Prinn, R.; Raga, G.; Schulz, M.; Van Dorland, R. 2007. Changes in Atmospheric Constituents and in Radiative Forcing. In: Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt K, Tignor M, and Miller H (Eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. 129-234.
- France, J.; Dhanoa, S.; Lopez, S.; Dijkstra, J.; Davies, R.; Sanderson, R.; Williams, A.; Sileshi, Z. 2000. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles observed *in vitro*: comparison of models. Br. J. Nutr. 83, 131-142 p.
- Gerber, P.J.; Steinfeld, H.; Henderson, B.; Mottet, A.; Opio, C.; Dijkman, J.; Falcucci, A.; Tempio, G. 2013. Enfrentando el cambio climático a través de la ganadería – Una evaluación global de las emisiones y oportunidades de mitigación. Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura (FAO), Roma. 345 p.
- Gere, J.; Gratton, R. 2010. Simple, Low-Cost flow controllers for time averaged atmospheric sampling and other applications. Latin American Applied Research. 40: 377-382.
- Göering, H. K.; Van Soest, P. J. 1970. Forage fiber analysis. Agricultural Handbook N° 379. US Department of Agriculture, Washington, DC.
- Gómez, C.; Fernández, M. 2009. Análisis comparativo de las emisiones de metano y efecto del cambio climático sobre la ganadería en el Perú. In: Los impactos del cambio climático sobre el agua y el manejo de los recursos naturales. SEPIA XIII. Cusco, 10 al 13 de agosto.
- Goopy, J.P.; Chang, C.; Tomkins, N. 2016. A Comparison of Methodologies for Measuring Methane Emissions from Ruminants. In: Rosenstock T., Rufino M., Butterbach-Bahl K., Wollenberg L., Richards M. (eds) Methods for Measuring Greenhouse Gas Balances and Evaluating Mitigation Options in Smallholder Agriculture. Springer, Cham

- Gordon, J.; Lascano, C. 2000. Plant–Animal Interactions in Complex Plant Communities: from Mechanism to Modelling. In Lemaire G, Hodgson J, Moraes de A, Nabinger C, Carvalho PC de F, editors. Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology. Wallingford UK: CABI Publishing; 70 p.
- Grainger, C.; Clarke, T.; McGinn, S.; Auldist, M.; Beauchemin, K.; Hannah, M.; Waghorn, G.; Clark, H.; Eckard, R. 2007. Methane Emissions from Dairy Cows Measured Using the Sulfur Hexafluoride (SF<sub>6</sub>) Tracer and Chamber Techniques. *Journal of Dairy Science*. 90: 2755-2766.
- Hammond, K.; Crompton, L.; Bannink, A.; Dijkstra, J.; Yáñez-Ruiz, D.; O’kielye, P.; Kebreab, E.; Eugène, M.; Yu, Z.; Shingfield, K.; Schwarm, A.; Hristov, A.; Reynolds, C. 2016. Review of current *in vivo* measurement techniques for quantifying enteric methane emission from ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. 219: 13–30.
- Hammond, K.; Humphries, D.; Crompton, L.; Green, C.; Reynolds, C. 2015. Methane emissions from cattle: Estimates from short-term measurements using a GreenFeed system compared with measurements obtained using respiration chambers or sulphur hexafluoride tracer. *Anim. Feed Sci. Technol.* 203:41–52.
- Hargreaves, J.; Kerr, J. 1992. Botanal—a comprehensive sampling and computing procedure for estimating pasture yield and composition. 2 Computational packages. St Lucia, Qld., CSIRO Division of Tropical Crops and Pastures.
- Harper, L.; Denmead, O.; Freney, J.; Byers, F. 1999. Direct measurements of methane emissions from grazing and feedlot cattle. *Journal of Animal Science*. 77: 1392-1401.
- Hegarty, R. 1999. Reducing rumen methane emissions through elimination of rumen protozoa. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50: 1321-1327.
- Hegarty, R. S.; Gerdes, R. 1999. Hydrogen production and transfer in the rumen. *Rec. Adv. Anim. Nutr. Austr.* 12:37–44.
- Hess, H. D.; Monsalve, L. M.; Lascano, C. E.; Carulla, J. E.; Diaz, T. E.; Kreuzer, M. 2003. Supplementation of a tropical grass diet with forage legumes and *Sapindus saponaria* fruits: effects on *in vitro* ruminal nitrogen turnover and methanogenesis. *Australian Journal of Agricultural Research*, 54(7), 703-713.

- 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 and Environment*. 113: 150-161.
- Howden, S. M.; Reyenga, P. J. 1999. Methane emissions from Australian livestock: implications of the Kyoto Protocol. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50(8), 1285-1292.
- INEI (Instituto Nacional de Estadística e Informática, Perú). 2013. IV Censo Nacional Agropecuario (IV CENAGRO). [www.inei.gob.pe](http://www.inei.gob.pe).
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change, Suiza). 1996. Guías para presentación de inventarios nacionales. Volumen 4: Agricultura, forestación y cambiario en el uso de la tierra. [En línea] 16 de marzo de 2018. <http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/vol4.htm>
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change, Suiza). 2006. Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. Chapter 10: Emissions from Livestock and Manure Management. Pág.10-84. [www.ipcc.ch](http://www.ipcc.ch)
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change, Suiza). 2007. . Summary for Policymakers. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Solomon, S.; Qin, D.; Manning, M.; Chen, Z.; Marquis, M.; Averyt, K.; Tignor, M.; Miller, H. (Eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change, Suiza). 2013. *Cambio Climático 2013: Las bases de la Ciencia Física. Resumen para responsables de políticas*. p 23.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change, Suiza). 2014. *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp.

- Jado, L. 2015. Desempeño metabolismo e emisaõ de metano de bovinos Nelore en terminacão recebendo oleos funcionais en substitucão o combinacão com monensina sodica na dieta. Tesis de Doctorado en ciencia animal. Piracicaba – Brasil.
- 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.
- Jastrow, R.; Nierenberg, W.; Seitz, F. 1991. Global warming: what does the science tell us? *Journal of Energy*. 11 (16): 1331-1345.
- Johnson, K. A., Johnson, D. E. 1995. Methane emissions from cattle. *Journal Animal Science*. 73: 2483-2492.
- Jonker, A.; Molano, G.; Koolaard, J.; Muetzel, S. 2017. Methane emissions from lactating and non-lactating dairy cows and growing cattle fed fresh pasture. *Animal Production Science*, 2017, 57, 643–648.
- Jung, H.; Allen, M. 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *Journal of Animal Science*, 73: 2774–2790.
- Kasuya, H.; Takahashi, J. 2010. Methane emissions from dairy cows fed grass or legume silage. *Asian-Australasian Journal Animal Science*. 23: 563-566.
- Kebreab, E.; Clark, K.; Wagner-Riddle, C., France, J. 2006. Methane and nitrous oxide emissions from Canadian animal agriculture: A review. *Canadian Journal of Animal Science*, 86, 135–158.
- Kessel, D. 2000. Global warming - facts, assessment, countermeasures. *Journal of Petroleum Science and Engineering*. 26: 157–16.
- Knapp, J.; Laur, G.; Vadas, P.; Weiss, W.; Tricarico, J. 2014. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *Journal of Dairy Science*. 97: 3231–3261.
- Kurihara, M.; Magner, T.; McCrabb, H.; McCrabb, G. 1999. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. *British Journal of Nutrition*, 81: 227-234.

- Lassey, K.; Pinares-Patiño, C.; Martin, R.; Molano, G.; McMillan, A. 2011. Enteric methane emission rates determined by the SF<sub>6</sub> tracer technique: Temporal patterns and averaging periods. *Animal Feed and Science Technology*. 166: 183-191.
- Lassey, K.; Ulyatt, M.; Martin, R.; Walker, C.; Shelton, I. 1997. Methane emissions measured directly from grazing livestock in New Zealand. *Atmospheric Environment*. 31: 2905-2914.
- Lassey, K. 2007. Livestock methane emission: From the individual grazing animal through national inventories to the global methane cycle. *Agricultural and Forest Meteorology*. 142: 120-132.
- Lassey, K.; Pinares-Patino, C.; Vlaming, J.; Smith, A.; Clark, H. 2011. Assessing the SF<sub>6</sub> tracer technique as an estimator of methane emissions from ruminants. Ministry of Agriculture and Forestry.
- Lassey, K.; Walker, C.; Mcmillan, A.; Ulyatt, M. 2001. On the performance of SF<sub>6</sub> permeation tubes used in determining methane emission from grazing livestock. *Chemosphere-Global Change Science*, 3: 367-376.
- Le Treut, H. 2007. Historical overview of climate change. *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*.
- Lee, J.; Woodward, S.; Waghorn, G.; Clark, D. 2004. Methane emissions by dairy cows fed increasing proportions of white clover (*Trifolium repens*) in pasture. *Proceedings New Zealand Society of Animal Production*. 66: 151-155.
- Lelieveld, J.; Crutzen, P.; Dentener, F. 1998. Changing concentration, lifetime and climate forcing of atmospheric methane. *Tellus*. 50: 128-150.
- Lemus de Jesús, G. 2008. Análisis de productividad de pasturas en sistemas silvopastoriles en fincas ganaderas de doble propósito en Esparza, Costa Rica. (No. Thesis L562a). CATIE, Turrialba (Costa Rica).
- Leng, R.; Kunju, P. 1993. A New Approach on Protein Nutrition for Ruminants. (NDDB: Anand, India.). 15: 2-22.

- Leng, R. A. 2011. The rumen- a fermentation vat or a series of organized structured microbial consortia: implications for the mitigation of enteric methane production by feed additives. *Livestock Research for Rural Development* 23, Article #258.
- León-Velarde, C.; Quiroz, R. A.; Cañas, R.; Osorio, J.; Guerrero, J.; Pezo, D. 2006. LIFE-SIM: Livestock feeding strategies simulation models. CIP-Natural Resources Management Division. Working Paper No. 2006-1. Lima, Perú. 37 p.
- Loh, Z.; Chen, D.; Bai, M.; Naylor, T.; Griffith, D.; Hill, J.; Denmead, T.; McGinn, S.; Edis, R. 2008. Measurement of greenhouse gas emissions from Australian feedlot beef production using open-path spectroscopy and atmospheric dispersion modelling. *Aust J Exp Agric* 48:244–247
- Lombardo, S. 2005. Asignación de forraje cantidad de forraje para ofrecer a los animales.[En línea]: [http://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R143/R\\_143\\_32.pdf](http://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R143/R_143_32.pdf).
- López, S. 2005. *In vitro* and *in situ* techniques for estimating digestibility. *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism*, 2nd edn. CAB International, Wallingford, UK, 87-121.
- López, S.; Newbold, J. 2007. Analysis of Methane. In: Makkar H, Vercoe P. (Eds.). *Measuring Methane Production from Ruminants*. Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria. 1-12.
- López, V. E. N.; y Rodríguez, C. N. A. 2011. Efectos de la fertilización y altura de corte sobre el rendimiento del pasto alemán (*Echinochloa polystachya*). Puerto Diaz-Juigalpa, Nicaragua 2009-2010 (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Agraria, UNA).
- Lukas, M.; Südekum, K.; Rave, G.; Friedel, K.; Susenbeth, A. 2005. Relationship between fecal crude protein concentration and diet organic matter digestibility in cattle. *Journal of Animal Science*, 83: 1332–1344.
- Mannetje, L. 't. 1978. Measuring quantity of grassland vegetation. In: *Measurement of Grassland Vegetation and Animal Production*. Ed. L. 't Mannetje. Commonw. Bur. Past. Fld. Crops, Hurley, Berks, England, Bull. 52.

- Manrique, L. P. 1993. Análisis de la evaluación del pasto alemán *Echinochloa polystachya* (HBK) Hicth cultivado en suelo arcilloso bajo cuatro frecuencias de corte. Acta Agronómica, 43(1-4), 145-149.
- Martin, C.; Morgavi, D. P.; Doreau, M. 2008. Methane mitigation in ruminants: from rumen microbes to the animal [En línea]. 5 de marzo de 2018. [http://www.animalbytes.org/wpcontent/uploads/2009/06/edition\\_2\\_lgccmartin.pdf](http://www.animalbytes.org/wpcontent/uploads/2009/06/edition_2_lgccmartin.pdf)
- Martínez, J.; Fernández, A. 2004. Cambio climático: una visión desde México. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. México, D. F., 525 pp.
- McCaughey, W.; Wittenberg, K.; Corrigan, D. 1999. Impact of pasture type on methane production by lactating beef cows. Canadian Journal of Animal Science. 79, 221-226.
- McDonald, P.; Edwards, R.; Greenhalgh, J.; Morgan, C. 1995. Animal Nutrition. Singapore: Longman. 607 p.
- McDowel, L.; Conrad, J.; Thomas, J. 1974. Latín American Tables of feed composition. Department of Animal Science- University of Florida -USA.
- McGinn, S.; Beauchemin, K.; Iwaasa, A.; McAllister, T. 2006. Assessment of the sulphur hexafluoride (SF<sub>6</sub>) tracer technique for measuring enteric methane emissions from cattle. Journal of Environmental Quality. 35: 1686-1691.
- Meale, S. J.; Chaves, A.V.; Baah, J.; McAllister, T. A. 2012. Methane production of different forages in *in vitro* ruminal fermentation. Asia-Australia Journal of Animal Science 25(1): 86-91.
- Medrano, T. L. 2019. Emisión de metano entérico de vacas en lactación en pastizales altoandinos en estación lluviosa y seca. Tesis Magister Scientiae Nutrición. Universidad Nacional Agraria La Molina. 86p.
- Melgarejo, L. G. 2017. Muestreo de forraje. In Practicas de producción y aprovechamiento de forrajes. Primera ed. Ciudad de México, México. ISBN 9786070296987. UNAM. p. 38-56.



- Mendoza, P.; Lascano, C. 1986. Mediciones en la pastura en ensayos de pastoreo. Evaluación de pasturas con animales: Alternativas metodológicas: In Memorias de una reunión de trabajo celebrada en Perú, 1-5 de octubre, 1984. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Red Internacional de Evaluación de Pastos Tropicales (RIEPT), Cali, Colombia. p 143 – 165 p.
- Menke, K.; Raab, L.; Salewski, A.; Steingäß, H.; Fritz, D.; Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding-stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. The Journal of Agricultural Science (Camb.), 93:217-222.
- Menke, K.H.; Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. In: Members of German Universities and Research Institutions by the Institute for Scientific Co-operation (Eds.), Animal Research and Development, Volume 28, 55 pp.
- Merlo-Maydana, F. E.; Ramírez-Avilés, L.; Ayala-Burgos, A. J.; y Ku-Vera, J. C. 2017. Efecto de la edad de corte y la época del año sobre el rendimiento y calidad de *Brachiaria brizantha* (A. Rich.) Staff en Yucatán, México. Journal of the Selva Andina Animal Science, 4(2), 116-127.
- Mertens, D. R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: collaborative study. Journal of AOAC International 85:1217-1240.
- Metidieri, J. 1983. Manual de gramíneas e leguminosas para pastos tropicais. Universidade de Sao Paulo, Brasil. 198p.
- Mills, J.; Kebreab, E.; Yates, C.; Crompton, L.; Cammell, S.; Dahnoa, M.; Agnew, R.; France, J. 2003. Alternative approaches to predicting methane emissions from dairy cows. Journal of Animal Science, 81: 3141–3150.
- MINAM (Ministerio del Ambiente, Perú). 2009. Cambio Climático y Desarrollo Sostenible en el Perú. [En línea] 31 de diciembre de 2016. [www.minam.gob.pe](http://www.minam.gob.pe) > CDAM0000323
- MINAM (Ministerio del Ambiente, Perú). 2015. Contribución prevista y determinada a nivel nacional (indc) de la República del Perú. Ministerio del Ambiente. [www.minam.gob.pe](http://www.minam.gob.pe).

- MINAM (Ministerio del Ambiente, Perú). 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](http://www.minam.gob.pe)
- Minson, D. J. 1977. Chemical composition and nutritive value of tropical legumes. Tropical forage legumes. FAO, Rome.
- Minson, D. J. 1990. Forage in Ruminant Nutrition. Academic Press, San Diego, CA.
- Mlay, P.S.; Pereka, A.; Phiri, E. Ch.; Balthazary, I. J.; Hvelplund, T.; Weisbjerg, M. R.; Madsen, J. 2006. Feed value of selected tropical grasses, legumes and concentrates. *Veterinarski Arhiv*;76(1):53-63.
- Modernel, P.; Rossing, W. A.; Tiftonell, P. A.; Fuhrer, J.; Gregory, P. 2014. Diversity in organic and agroecological farming systems for mitigation of climate change impact, with examples from Latin America. In *Climate, change impact and adaptation in agricultural systems* (pp. 69-87). CABI.
- Moe, P., Tyrrell, H. 1979. Methane production in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 62:1583–1586.
- Molano, G.; Clark, H. 2008. The effect of level of intake and forage quality on methane production by sheep. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 48: 219-222.
- Monsalve, S. 1978. Estudios sobre pasto Alemán (*Echinochloa polystachya*) (H.B.K.) (Hitch) en Colombia.II. Altura y frecuencia de corte. *Revista ICA* 13(4): 666-669 p.
- Montenegro, J.; Abarca, S. 2000. Fijación de carbono, emisión de metano y de óxido nitroso en sistemas de producción bovina en Costa Rica. En: *Intensificación de la ganadería en Centroamérica: beneficios económicos y ambientales*. CATIE – FAO – SIDE. Ed. Nuestro Tierra. 334 pág.
- Moore, J.; Hatfield, D. 1994. Carbohydrates and forage quality. In: *Forage Quality, Evaluation, and Utilization* (Fahey, G. C., Jr., Collins, M. C., Mertens, D. R. & Moser, L. E., eds.). American Society of Agronomy, Madison, WI. 229–280 p.
- Moraes, G. T.; Texeira da Siveira, M. C. 2018. Uso da altura para ajuste de carga em pastagens. Comunicado Técnico 101. 1ª Edição. EMBRAPA. Bagé, RS. Dezembro.

- Morais, M. A.; Gonçalves, L.; Dias Sales, P.; Hoske Gruppioni, I., Soares Gonçalves, D.; Pedrosa, F.; da Costa Alves, J.; Fagundes, T. 2015. Métodos para medir a emissão individual de metano por ruminantes. Hexafluoreto de enxofre, produção de gases *in vitro*, respirometria. Vol. 12, Nº 06, [www.nutritime.com.br](http://www.nutritime.com.br)
- Morgavi, D. P.; Forano, E.; Martin, C.; Newbold, C. J. 2010. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal*. 4:1024–1036.
- Moscoso, J.; Franco, F.; San Martín, F.; Olazábal, J.; Chino, L.; Pinares-Patiño, C. 2017. Producción de Metano en Vacunos al Pastoreo Suplementados con Ensilado, Concentrado y Taninos en el Altiplano Peruano en Época Seca. *Rev. Inv. Vet. Perú*. 28(4): 822-833.
- Moss, A. R. 1994. Methane production by ruminants. Literature review of I. Dietary manipulation to reduce methane production and II. Laboratory procedures for estimating methane of diets. *Nutr. Abst. Rev. (Series B)* 64,785–806.
- Moss, A.; Jouany, J.; Newbold, C. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de Zootechnie*. 43: 231-253.
- Muñoz, C.; Hube, S.; Morales, J.; Yan, T.; Ungerfeld, E. 2015. Effects of concentrate supplementation on enteric methane emissions and milk production of grazing dairy cows. *Livestock Science*, 175: 37-46.
- Murray, R.; Bryant, A.; Leng, R. 1976. Rates of production of methane in the rumen and large intestine of sheep. *British Journal of Nutrition*. 36: 1-14.
- Narváez, N.; Lascano, C. 1989. Digestibilidad *in vitro* de especies forrajeras tropicales. 1. Comparación de métodos de determinación. *Pasturas Tropicales* 11: 13-18.
- Navarro-Villa, A.; O'brien, M.; Lopez, S.; Boland, T.M.; O'kiely, P. 2011. Modifications of a gas production technique for assessing *in vitro* rumen methane production from feedstuffs. *Anim. Feed Sci. Technol.* v.166, p.163–174.
- Neto, J.; Messana, D.; Ribeiro, A.; Vito, E.; Rossi, L.; Berchielli, T. 2015. Effect of starch-based supplementation level combined with oil on intake, performance, and methane emissions of growing Nellore bulls on pasture. *J. Anim. Sci.* 2015.93.

- Nguyen, S.; Hegarty, R. 2017. Effects of defaunation and dietary coconut oil distillate on fermentation, digesta kinetics and methane production of Brahman heifers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 101(5):984–993
- Niu, M.; Kebreab, E.; Hristov, A. N.; Oh, J.; Arndt, C.; Bannink, A.; Bayat A.; Brito, A.; Boland, T.; Casper, D.; Crompton, L.; Dijkstra, J.; Eugene, M.; Garnsworthy, P.; Haque, M.; Hellwing A.; Huhtanen, P.; Kreuzer, M.; Kuhla, B.; Lund, P.; Madsen, J.; Martin, C.; McClelland, S.; McGeeM.; Moate, P.; Muetzel, S.; Muñoz, C.; O’Kiely, P.; Peiren, N.; Reynolds, C.; Schwarm, A.; Shingfield, K.; Storlien, T.; Weisbjerg, M.; Yañez-Ruiz, M.; Yu, Z. 2018. Prediction of enteric methane production, yield, and intensity in dairy cattle using an intercontinental database. *Global change biology*, 24(8), 3368-3389.
- Ominski, K.; Wittenberg, K.; Boadi, D. 2004. Examination of economically and environmentally sustainable management practices in forage-based beef production systems, presented at the CCFIA Final Workshop, Winnipeg, January 2004.
- ONU (Organización de las Naciones Unidas, USA). 1992. Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático [En línea]. 14 de mayo de 2018. <http://unfccc.int/resource/docs/convkp/convsp.pdf>.
- Orpin, C. G.; y Joblin, K. N. 1997. The rumen anaerobic fungi. In *The rumen microbial ecosystem* (pp. 140-195). Springer, Dordrecht.
- Otoya, V. E. 1986. Efecto de la época del año y días de ocupación en la calidad nutritiva de *Brachiaria decumbens*. *Pasturas Tropicales*, 8(1), 2-5.
- Pedreira, M.; Primavesi, O.; Lima M.; Frighetto, R.; de Oliveira, S.; Berchielli, T. 2009. Ruminant methane emission by dairy cattle in Southeast Brazil. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, v.66, n.6, p.742-750, November/December.
- Pellikaan, W. F.; Hendriks, W. H.; Uwimana, G.; Bongers, L. J. G. M.; Becker, P. M.; Cone, J. W. 2011. A novel method to determine simultaneously methane production during *in vitro* gas production using fully automated equipment. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 168(3-4), 196-205.

- Perry, L.; Al Jassim, R.; Gaughan, J.; Tomkins, N. 2016. Effect of feeding forage characteristic of wet- or dry-season tropical C4 grass in northern Australia, on methane production, intake and rumen outflow rates in *Bos indicus* steers. *Animal Production Science*. A-H.
- Pinares-Patiño, C.; Ulyatt, M.; Lassey, K.; Barry, T.; Holmes, C. 2003a. Rumen function and digestion parameters associated with differences between sheep in methane emissions when fed chaffed lucerne hay. *Journal of Agricultural Science*. 140: 205-214.
- Pinares-Patiño, C.; Baumont, R.; Martin, C. 2003b. Methane emissions by Charolais cows grazing a monospecific pasture of timothy at four stages of maturity. *Canadian Journal of Animal Science*. 83: 769-776.
- Pinares-Patiño, C.; Clark, H. 2008. Reliability of the sulphur hexafluoride tracer technique for methane emission measurement from individual animals: an overview. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 48, 223–229.
- Piña, L.; Olivares, A. S. A. 2012. Oferta y disponibilidad de forraje como factores en la selectividad y consumo de la pradera. Departamento de Producción Animal, Universidad de Chile. [En línea]: [http://www.uchile.cl/documentos/oferta-y-disponibilidad-de-forraje-como-factores-en-la-selectividad-y-consumo-de-la-pradera\\_58311\\_25.pdf](http://www.uchile.cl/documentos/oferta-y-disponibilidad-de-forraje-como-factores-en-la-selectividad-y-consumo-de-la-pradera_58311_25.pdf).
- Pond, K. R.; Burns, J. C.; Fisher, D. S.; Quiroz, R. A. 1986. Appropriate markers and methodology for grazing studies. in *Proc. Southern Pasture and Forage Crop Improvement Conf. National Tech. Info. Ser., Springfield, VA*. 62 p.
- Poppi, D; McLennan, S. 1995. Protein and Energy utilization by ruminants at pasture. *Journal of Animal Science*. 73: 278-290.
- Prigge, E. C.; Varga, G. A.; Vicini, J. L.; Reid, R. L. 1981. Comparison of ytterbium chloride and chromium sesquioxide as fecal indicators. *Journal of Animal Science*
- Primavesi, O.; Frighetto, R. T. S.; Pedreira, M. D. S.; Berchielli, T. T.; Barbosa, P. F. 2004. Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 39(3): 277-283.

- Primavesi, O.; Frighetto, R. T. S.; Pedreira, M. S.; Berchielli, T.; Rodrigues, A. 2003. Low-fiber sugarcane to improve meat production with less methane emission in tropical dry season. In Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: International Methane and Nitrous Oxide Mitigation Conference, 3., 2003, Beijing. Proceedings. Beijing: China Coal Information Institute, 2003. p. 185-189.
- Ramírez, H. 1997. Evaluación de dos sistemas silvopastoriles integrados por *Cynodon plectostachyus*, *Leucaena Leucocephala* y *Prosopis juliflora*. En: CIPAV. Seminario Internacional de Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria. Cali.
- Ramírez-Restrepo, A.; Clark, H.; Muetzel, S. 2015. Methane emissions from young and mature dairy cattle. *Animal Production Science*. 15: 102-112.
- Ramírez-Restrepo, C.; Barry, T. 2005. Alternative temperate forages containing secondary compounds for improving sustainable productivity in grazing ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. 120: 179–201.
- Restrepo, C.; Noguera, R. R.; Posada, S. L. 2016. Ecuaciones para predecir metano en ganado lechero: Un meta-análisis. *Livestock Research for Rural Development*. Volume 28, Article #129. <http://www.lrrd.org/lrrd28/7/rodr28129.html>
- Ricci, P.; Rooke, J.; Nevison, I.; Waterhouse, A. 2014. Methane emissions from beef and dairy cattle: Quantifying the effect of physiological stage and diet characteristics. *Journal of Animal Science*. 91: 5379–5389.
- Rivera, J. E.; Molina, I. C.; Donneys, G.; Villegas, G.; Chará, J.; Barahona, R. 2015. Dinámicas de fermentación y producción *in vitro* de metano en dietas de sistemas silvopastoriles intensivos con *L. leucocephala* y sistemas convencionales orientados a la producción de leche. *Livestock Research for Rural Development*, 27(4), 1-15.
- Robertson, L.; Waghorn, G. 2002. Dairy industry perspectives on CH<sub>4</sub> emissions and production from cattle fed pasture or total mixed rations in New Zealand. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 62: 213-218.
- Rymer, C.; Huntington, J. A.; Williams, B. A.; Givens, D. I. 2005. *In vitro* cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v.123, p.9–30.

- Santiago-Juárez, B.; Moraes, L. E.; Appuhamy, J. ; Pellikaan, W. F.; Casper, D. P.; Tricarico, J.; Kebreab, E. 2016. Prediction and evaluation of enteric methane emissions from lactating dairy cows using different levels of covariate information. *Animal production science*, 56(3), 557-564.
- Scarnecchia, D. L.; Kothmann, M. M. 1982. A Dynamic approach to grazing management terminology. *Journal of Range Management* 35(2): 262 – 264.
- SENAMHI (Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología, Perú). 2017. Boletín Agrometeorológico. Dirección Zonal 10. Consultado enero 2018. Disponible en: <http://www.senamhi.gob.pe/load/file/04410SENA-14.pdf>
- Senger, C. C. D.; Kozloski, G. V.; Sanchez, L. M. B.; Mesquita, F. R.; Alves, T. P.; Castagnino, D. S. 2008. Evaluation of autoclave procedures for fiber analysis in forage and concentrate feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology* 146:169-174.
- Soto, S.; Rodríguez, J.C.; Russo, R. 2009. Digestibilidad *in vitro* en forrajes tropicales a diferentes edades de rebrote. *Revista Tierra Tropical* 5 (1): 83-89.
- Suzuki, T.; McCrabb, G.; Nishida, T.; Indramanee, S.; Kurihara, M. 2007. Construction and operation of ventilated hood-type respiration calorimeters for *in vivo* measurement of methane production and energy partition in ruminants. In: Makkar H.P.; Vercoe P.E. (eds). *Measuring methane production from ruminants*. pp. 125-135. Springer, Dordrecht
- Tarazona, A.; Ceballos, M.; Naranjo. J.; Cuartas, C. 2012. Factores que afectan el comportamiento de consumo y selectividad de forrajes en rumiantes. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25(3), 473-487.
- Theodorou, M. K.; Williams, B. A.; Dhanoa, M. S.; McAllan, A. B.; France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim Feed Sci Technol*. 48 (3-4): 185-197.
- Tiemann, T. T.; Lascano, C. E.; Wettstein, H. R.; Mayer, A. C.; Kreuzer, M.; and Hess, H. D. 2008. Effect of the tropical tannin-rich shrub legumes *Calliandra calothyrsus* and *Flemingia macrophylla* on methane emission and nitrogen and energy balance in growing labs. *Animal*, 2: 790-799.

- Tomkins, N.; Denman, S.; Pilajunc, R.; Wanapatc, M.; Mcsweeney, C.; Elliott, R. 2015. Manipulating rumen fermentation and methanogenesis using an essential oil and monensin in beef cattle fed a tropical grass hay. *Animal Feed Science and Technology*. 200: 25–34.
- Tomkins, N.; McGinn, S.; Turner, D.; Charmley, E. 2011. Comparison of open-circuit respiration chambers with a micrometeorological method for determining methane emissions from beef cattle grazing a tropical pasture. *Anim Feed Sci Technol* 166–167:240–247
- Tonini, M.; Griffith, D.; Bryant, G.; Phillips, F.; Eckard, R.; Grainger, C.; McGinn, S. 2007. An open air tracer method for measuring CH<sub>4</sub> emissions from cattle. *GGAAC*. New Zeland.
- Travieso, M. D. C.; Álvarez, J. S. G.; Puente, S. L.; Solís, C. V.; y Bochi-Brum, O. 1999. Digestibilidad *in vitro* de forrajes y concentrados: efecto de la ración de los animales donantes de líquido ruminal. *Archivos de Zootecnia*, 48(181), 51-61.
- Uden, P.; Colucci, P.E.; Van Soest, P.J. 1980. Investigations in chromium, serum and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. *J. Sci. Food Agric.* 31:625.
- Ulyatt, M.; Baker, S.; Mccrabb, G.; Lassey, K. 1999. Accuracy of SF<sub>6</sub> tracer technology and alternatives for field measurements. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50: 1329-1334.
- Valadares-Filho, S. de C.; Marcos-Inácio, M. I., Paulino, P. V. 2010. Exigências nutricionais de Zebuínos, puros ou cruzados. *BR-Corte*. 2a Edição. Viçosa, MG.: Universidade Federal de Viçosa; 2010. <http://www.brcorte.com.br/br/exigencias/calculador>.
- Van Kessel, J. A. S.; Russell, J. B. 1996. The effect of pH on ruminal methanogenesis. *FEMS Microbiology Ecology*, 20(4), 205-210.
- Van Soest, P. J.; Robertson, J. B. 1985. Analysis of forages and fibrous foods. Cornell University, Ithaca. Van Soest, P. J., Robertson, J., Lewis, B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal Dairy Science*. 74: 3583-3597.



- Van Soest, P.; Robertson, J.; Lewis, B. 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal Dairy Science*. 74: 3583-3597.
- Van Soest, P. 1994. *Nutritional ecology of the ruminants*. 2nd ed. Ithaca: Cornell University Press. 108-195 p.
- Vargas, M., J. 2013. Producción de metano *in vitro* e *in vivo* de gramíneas y leguminosas presentes en sistemas de producción bovina en trópico alto colombiano (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia).
- Vélez, V.; Obando, A.; San Martín, F.; Olazabal, J.; Pacheco, J.; Franco, F. 2014. Relación entre el consumo de materia seca y la estimación de la emisión de metano en vacunos lecheros diferenciada por sistema de producción y fase de lactancia en la irrigación Majes –Arequipa –Perú. Publicado en los Resúmenes del Taller Sobre Medición de Gases de Efecto Invernadero en Sistemas Ganaderos. GALA. INIA –Remehue.
- 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 Productions Animales*. 8: 265-272.
- Vlaming, J. 2008. Quantifying variation in estimated methane emission from ruminants using the SF<sub>6</sub> tracer technique. Thesis Doctoral. Palmerston North, New Zealand, Massey University. 186 p.
- Waghorn, G.; Woodward, S. 2006. Ruminant contributions to methane and global warming – New Zealand perspective. In: Bhatti J, Lal R, Apps M, Price M. (Eds.). *Climate Change and Managed Ecosystems*. CRC Taylor and Francis, Boca Raton, FL, USA. 233-260.
- Westberg, H. H.; Johnson, K. A.; Cossalman, M.W.; Michal, J. J. 1998. A SF<sub>6</sub> tracer technique: methane measurement from ruminants. 2. rev. Relatório. Pullman-Washington: Washington State University, 40p.
- William, C.; David, D.; Lismoa, O. 1962. The determination of chromic oxide in fecal samples by atomic absorption spectrophotometry. *Journal Agricultural Science*. 59: 381-385.

- Williams, A.; Coleman, G. 1997. The rumen Protozoa. In: Hobson, P. N. and Stewart, C. S. (Eds.). The rumen microbial ecosystem. Blackie Academic & Professional. London, UK. p.82.
- Williams, Y.; Walker, G.; Doyle, P.; Egan, A.; Stockdale, C. 2005. Rumen fermentation characteristics of dairy cows grazing different allowances of Persian clover- or perennial ryegrass-dominant swards in spring. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 45: 665-675.
- Woodward, S. L.; Waghorn, G. C.; Ulyatt, M. J.; Lassey, K. R. 2001. Early indications that feeding Lotus will reduce methane emissions from ruminants. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 61, 23–26.
- Yan, T.; Mayne, C. S.; Gordon, F. G.; Porter, M. G.; Agnew, R. E.; Patterson, D. C.; Ferris, C. P.; Kilpatrick, D. J. 2010. Mitigation of enteric methane emissions through improving efficiency of energy utilization and productivity in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93(6), 2630-2638.
- Zimmerman, S.; Michal, J. J.; White, R.; Johnson, K. A.; Guerouali, A.; Zimmerman, P. 2013. Evaluation of a novel system to measure enteric methane emissions from beef cattle on pasture. *Journal of Animal Science*, 91(E-Suppl. 2), 471.
- Zorrilla, R.J. 1980. Determinación del consumo voluntario de forraje en condiciones de pastoreo. Cap. V, en: *Manual de técnicas de investigación en nutrición de rumiantes*. INIP-SARH. Pp. 181-214.

## **VIII. ANEXOS**

Anexo 1. Características meteorológicas promedio mensual para el año 2017

| Mes | Precipitación<br>(mm) | Temperatura promedio (°C) |        |          | Humedad relativa<br>(%) |
|-----|-----------------------|---------------------------|--------|----------|-------------------------|
|     |                       | Mínimo                    | Máximo | Promedio |                         |
| Ene | 414.9                 | 20.7                      | 29.1   | 25.0     | 86.4                    |
| Feb | 372.3                 | 21.3                      | 30.0   | 25.8     | 84.8                    |
| Mar | 271.0                 | 20.9                      | 29.8   | 25.5     | 83.8                    |
| Abr | 252.7                 | 20.9                      | 30.8   | 26.0     | 81.1                    |
| May | 208.5                 | 21.0                      | 30.8   | 25.9     | 81.7                    |
| Jun | 163.2                 | 20.7                      | 30.5   | 25.6     | 81.7                    |
| Jul | 88.9                  | 18.8                      | 30.1   | 24.5     | 79.6                    |
| Ago | 112.0                 | 19.4                      | 32.0   | 25.7     | 78.1                    |
| Set | 166.7                 | 20.2                      | 31.6   | 25.9     | 80.4                    |
| Oct | 215.6                 | 20.5                      | 32.2   | 26.4     | 77.2                    |
| Nov | 334.9                 | 21.4                      | 30.6   | 26.1     | 82.2                    |
| Dic | 386.4                 | 21.2                      | 30.8   | 25.8     | 81.1                    |

Fuente: Estación Tulumayo (SENAMHI, 2017).

Anexo 2. Características de los animales experimentales para ambos periodos de estudio.

| Animal<br>N° | Marcador<br>externo | Clave<br>N° | Mayor precipitación |        | Menor precipitación |       |
|--------------|---------------------|-------------|---------------------|--------|---------------------|-------|
|              |                     |             | P. I.               | P. F.  | P. I.               | P. F. |
| 1            | Cromo               | 0411-435    | 280                 | 284    | 337                 | 342   |
| 2            | Cromo               | 1209-335    | 322                 | 326    | 382                 | 387   |
| 3            | Cromo               | 2811-505    | 268                 | 272    | 322                 | 327   |
| 4            | Titanio             | 0206-276    | 382                 | 383    | 401                 | 402   |
| 5            | Cromo               | 1511-455    | 308                 | 312    | 359                 | 363   |
| 6            | Titanio             | 0506-296    | 287                 | 292    | 351                 | 357   |
| 7            | Cromo               | 1412-535    | 230                 | 238    | 344                 | 356   |
| 8            | Titanio             | 1210-385    | 181                 | 186    | 249                 | 256   |
| 9            | Titanio             | 1312-625    | 191                 | 196    | 262                 | 269   |
| 10           | Titanio             | 1009-325    | 301                 | 305    | 359                 | 364   |
| 11           | Cromo               | 1004-146    | 300                 | 310    | 439                 | 454   |
| 12           | Cromo               | 2803-126    | 374                 | 382    | 482                 | 492   |
| 13           | Titanio             | 0211-425    | 329                 | 334    | 397                 | 403   |
| 14           | Titanio             | 0604-136    | 165                 | 171    | 249                 | 258   |
| Media        |                     |             | 279.9               | 285.13 | 352.4               | 359.3 |
| D.E.         |                     |             | 67.2                | 66.79  | 68.2                | 68.8  |
| E.E          |                     |             | 17.9                | 17.85  | 18.2                | 18.4  |

Anexo 3. Composición botánica de la pastura seleccionada (en porcentaje) durante el periodo de mayor y menor precipitación pluvial.

| Periodo de mayor precipitación |      |      |      |      |      |      |       |       |
|--------------------------------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|
| DÍA <sup>1</sup>               | PA   | PN   | MV   | MS   | H    | T    | R H/T |       |
| 1                              | 94.2 | 5.8  | 91.1 | 8.9  | 72.0 | 28.0 | 2.6   |       |
| 2                              | 93.7 | 6.3  | 89.6 | 10.4 | 75.0 | 25.0 | 3.0   |       |
| 3                              | 91.1 | 8.9  | 87.2 | 12.8 | 79.0 | 21.0 | 3.8   |       |
| 4                              | 88.9 | 11.1 | 88.6 | 11.4 | 74.0 | 26.0 | 2.8   |       |
| 5                              | 86.2 | 13.8 | 86.8 | 13.2 | 74.0 | 26.0 | 2.8   |       |
| 6                              | 84.9 | 15.1 | 87.0 | 13.0 | 72.0 | 28.0 | 2.6   |       |
| 7                              | 81.2 | 18.8 | 89.7 | 10.3 | 72.0 | 28.0 | 2.6   |       |
| N                              | 7    | 7    | 7    | 7    | 7    | 7    | 7     |       |
| Media                          | 88.6 | 11.4 | 88.6 | 11.4 | 74.0 | 26.0 | 2.9   |       |
| D.E.                           | 4.8  | 4.8  | 1.6  | 1.6  | 2.5  | 2.5  | 0.4   |       |
| E.E.                           | 1.8  | 1.8  | 0.6  | 0.6  | 1.0  | 1.0  | 0.2   |       |
| CV                             | 5.4  | 42.1 | 1.9  | 14.4 | 3.4  | 9.7  | 14.9  |       |
| Periodo de menor precipitación |      |      |      |      |      |      |       |       |
| DÍA <sup>2</sup>               | PA   | PN   | L    | MV   | MS   | H    | T     | R H/T |
| 1                              | 65.0 | 19.0 | 16.0 | 89.0 | 11.0 | 68.5 | 31.5  | 2.2   |
| 2                              | 71.0 | 11.0 | 18.0 | 92.0 | 8.0  | 76.6 | 23.4  | 3.3   |
| 3                              | 59.0 | 27.0 | 15.0 | 92.0 | 8.0  | 82.4 | 17.6  | 4.7   |
| 4                              | 54.0 | 17.0 | 29.0 | 90.0 | 10.0 | 73.7 | 28.9  | 2.5   |
| 5                              | 58.0 | 18.0 | 24.0 | 83.0 | 17.0 | 80.0 | 20.0  | 4.0   |
| 6                              | 64.0 | 16.0 | 20.0 | 80.0 | 20.0 | 67.4 | 32.6  | 2.1   |
| 7                              | 52.0 | 11.0 | 37.0 | 92.0 | 8.0  | 75.0 | 25.0  | 3.0   |
| N                              | 7    | 7    | 7    | 7    | 7    | 7    | 7     | 7     |
| Media                          | 60.4 | 17.0 | 22.3 | 88.3 | 11.7 | 74.8 | 25.6  | 3.1   |
| D.E.                           | 6.7  | 5.5  | 7.5  | 4.9  | 4.9  | 5.5  | 5.7   | 1.0   |
| E.E.                           | 2.5  | 2.1  | 2.6  | 1.8  | 1.8  | 2.1  | 2.2   | 0.4   |
| CV                             | 11.0 | 32.0 | 33.6 | 5.5  | 41.5 | 7.4  | 22.3  | 31.0  |

<sup>1</sup>04/05/2017 - 10/05/2017. <sup>2</sup>21/08/2017 - 29/08/2017. PA: pasto alemán; PN: pasto natural; MV: materia verde; MS: material senescente; H: hoja; T: tallo; R H/T: relación hoja/tallo

**Anexo 4. Cálculos de carga animal instantánea, carga animal y capacidad de carga de la pastura en ambos periodos de estudio**

|  | Periodo de precipitación  |   |
|--|---|---|
|  | Máxima  | Mínima  |
| <p>Unidad Animal equivalente (UAeq)</p> $Equivalencia (E) = \left( \frac{Peso\ vivo}{UA} \right)^{0.75}$ <p><math>UAeq = N^{\circ} animales \times E</math><br/> <math>UA = 450\ kg\ PV</math></p>   | $Emáxima\ pp = \left( \frac{279.86}{450} \right)^{0.75} = 0.70$ $UAeq - máx. pp = 14 \times 0.70 = 9.80$  | $Emínima\ pp = \left( \frac{352.36}{450} \right)^{0.75} = 0.83$ $UAeq - mín. pp = 14 \times 0.83 = 11.65$   |
| <p>Carga animal instantánea por periodo</p> $CAI = \frac{UA\ eq}{Área\ del\ potrero\ (Ha)}$  | $CAImáx. pp = \frac{9.80\ UA}{1.5\ Ha} = 6.5 \frac{UA}{Ha}$   | $CAImín. pp = \frac{11.65\ UA}{1.5\ Ha} = 7.8\ UA/Ha$   |
| <p>Carga animal por periodo</p> $CA = \frac{UAeq}{N^{\circ}\ Ha}$ <p><math>N^{\circ}\ Ha = Área\ del\ potrero\ (Ha) \times NRA</math></p> <p>N° rotaciones por año (NRA)</p> $NRA = \frac{365\ días}{Días\ de\ pastoreo + descanso}$ <p>N° rotaciones por periodo (NRP)</p> $NRP = \frac{N^{\circ}\ días\ del\ periodo\ (NDP)}{Días\ de\ pastoreo + descanso}$ | $CA(máx. pp) = \frac{9.80\ UA}{5.91\ Ha} = 1.66 \sim 1.7 \frac{UA}{Ha}$ $N^{\circ}\ Ha(máx. pp) = 1.5\ ha \times 3.94 = 5.91$ $NRPmáx. pp = \frac{213}{9 + 45} = 3.94 \sim 3.9$   | $CA(mín. pp) = \frac{11.65\ UA}{4.22\ Ha} = 2.76 \sim 2.8\ UA/Ha$ $N^{\circ}\ Ha(mín. pp) = 1.5\ Ha \times 2.81 = 4.22$ $NRPmín. pp = \frac{152}{9 + 45} = 2.81 \sim 2.8$   |
| <p>Capacidad de carga (CC)</p> <p>Por año</p> $CCa = \frac{Biomasa\ \left( kg \frac{MS}{Ha} / año \right) \times Utilización\ (U\ \%)}{\frac{CMS}{UA} (kg/año)}$ <p>Por periodo</p> $CCp = \frac{Biomasa\ \left( kg \frac{MS}{Ha} / año \right) \times U\ (\%) \times NPR}{CMS \times UA\ \left( \frac{kg}{día} \right) \times NDP}$                           | $CCmáx\ pp = \frac{3854.1\ \left( kg \frac{MS}{Ha} / año \right) \times 0.5 \times 3.9}{(450 \times 0.03) \left( \frac{kg}{día} \right) \times 213\ días} = 2.61$ <p>213 días ~ 7 meses del periodo de máxima precipitación</p> | $CCmín\ pp = \frac{3261.9\ \left( kg \frac{MS}{Ha} / año \right) \times 0.5 \times 2.8}{(450 \times 0.03) \left( \frac{kg}{día} \right) \times 152\ días} = 2.23$ <p>152 días ~ 5 meses del periodo de mínima precipitación</p> |

Anexo 5. Análisis químico proximal y energía bruta expresados en base seca de la pastura seleccionada durante el periodo de mayor y menor precipitación pluvial.

| Periodo de mayor precipitación |        |        |        |        |         |         |            |            |
|--------------------------------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|------------|------------|
| Día <sup>1</sup>               | MS (%) | Cz (%) | MO (%) | PC (%) | FDN (%) | FDA (%) | EB (Mj/kg) | EB (Mj/kg) |
| 1                              | 275.0  | 102.0  | 898.0  | 104.0  | 668.0   | 377.0   | 15.9       | 10.5       |
| 2                              | 255.0  | 127.0  | 873.0  | 93.0   | 671.0   | 373.0   | 15.4       | 10.2       |
| 3                              | 225.0  | 116.0  | 884.0  | 101.0  | 701.0   | 395.0   | 16.0       | 10.6       |
| 4                              | 274.0  | 119.0  | 881.0  | 99.0   | 690.0   | 376.0   | 16.1       | 10.6       |
| 5                              | 270.0  | 114.0  | 886.0  | 102.0  | 694.0   | 381.0   | 16.4       | 10.8       |
| 6                              | 227.0  | 127.0  | 873.0  | 106.0  | 686.0   | 385.0   | 16.0       | 10.6       |
| 7                              | 248.0  | 114.0  | 886.0  | 100.0  | 685.0   | 371.0   | 16.3       | 10.8       |
| Media                          | 253.4  | 117.0  | 883.0  | 100.7  | 685.0   | 379.7   | 16.0       | 10.6       |
| D.E.                           | 21.2   | 8.6    | 8.6    | 4.2    | 11.9    | 8.2     | 0.3        | 0.2        |
| E. E                           | 8.0    | 3.3    | 3.3    | 1.6    | 4.5     | 3.1     | 0.1        | 0.1        |
| %CV                            | 8.4    | 7.4    | 1.0    | 4.1    | 1.7     | 2.2     | 2.0        | 2.0        |
| Periodo de menor precipitación |        |        |        |        |         |         |            |            |
| Día <sup>1</sup>               | MS (%) | Cz (%) | MO (%) | PC (%) | FDN (%) | FDA (%) | EB (Mj/kg) | ED (Mj/kg) |
| 1                              | 252.0  | 112.0  | 888.0  | 128.0  | 693.0   | 372.0   | 16.3       | 11.1       |
| 2                              | 303.0  | 116.0  | 884.0  | 115.0  | 709.0   | 379.0   | 16.4       | 11.1       |
| 3                              | 268.0  | 114.0  | 886.0  | 130.0  | 683.0   | 363.0   | 16.4       | 11.1       |
| 4                              | 262.0  | 111.0  | 889.0  | 126.0  | 686.0   | 378.0   | 16.5       | 11.2       |
| 5                              | 286.0  | 118.0  | 882.0  | 130.0  | 703.0   | 396.0   | 16.2       | 11.0       |
| 6                              | 290.0  | 116.0  | 884.0  | 123.0  | 719.0   | 393.0   | 16.4       | 11.1       |
| 7                              | 271.0  | 110.0  | 890.0  | 127.0  | 705.0   | 375.0   | 16.4       | 11.1       |
| Media                          | 276.0  | 113.9  | 886.1  | 125.6  | 699.7   | 379.4   | 16.4       | 11.1       |
| D.E.                           | 17.7   | 3.0    | 3.0    | 5.3    | 13.0    | 11.6    | 0.1        | 0.1        |
| E. E                           | 6.7    | 1.1    | 1.1    | 2.0    | 4.9     | 4.4     | 0.003      | 0.02       |
| %CV                            | 6.4    | 2.6    | 0.3    | 4.2    | 1.9     | 3.1     | 0.6        | 0.5        |

<sup>1</sup>21/08/2017 - 28/08/2017. <sup>2</sup>21/08/2017 - 29/08/2017. MS: materia seca; Cz: ceniza; MO: materia orgánica; FDN: fibra detergente neutra; FDA: fibra detergente ácida; EB: energía bruta; D.E.: desviación estándar; E.E.: error estándar; CV: coeficiente de variación

Anexo 6. Medio para digestibilidad *in vitro* mediante el método Daisy II Ankom® Incubator

| Reactivos:  |         |
|---|---------|
| Buffer A  | g/litro |
| Fosfato de potasio dihidrógeno (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )         | 10.0    |
| Sulfato de magnesio septihidratado (MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O) | 0.5     |
| Cloruro de sodio (NaCl)   | 0.5     |
| Cloruro de calcio dihidratado (CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O)      | 0.1     |
| Urea (grado reactivo)   | 0.5     |
| Buffer B  |         |
| Bicarbonato de sodio (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )                   | 15.0    |
| Sulfato de sodio nonahidratado (Na <sub>2</sub> S.9H <sub>2</sub> O)      | 1.0     |

Anexo 7. Digestibilidad *in vitro* mediante el método Daisy II Ankom® Incubator expresado en base seca de la pastura seleccionada en ambos periodos de evaluación.

| Día <sup>1</sup> | Periodo  |       |                     |       |
|------------------|--|-------|---------------------|-------|
|                  | Mayor precipitación                                |       | Menor precipitación |       |
|                  | Digestibilidad <i>In vitro</i> (g/kg en base seca) |       |                     |       |
|                  | MS   | MO    | MS                  | MO    |
| 1                | 586.5  | 656.2 | 610.6               | 698.2 |
| 2                | 586.9  | 640.1 | 585.4               | 661.9 |
| 3                | 584.8  | 649.3 | 555.9               | 631.2 |
| 4                | 585.4  | 642.3 | 578.0               | 655.3 |
| 5                | 599.0  | 663.1 | 567.0               | 642.3 |
| 6                | 578.5  | 638.7 | 558.8               | 636.5 |
| 7                | 562.5  | 617.6 | 541.0               | 616.4 |
| Media            | 583.4  | 571.0 | 643.9               | 648.8 |
| D.E.             | 11.1   | 22.8  | 14.6                | 26.5  |
| E.E.             | 4.2  | 8.6   | 5.5                 | 10.0  |

<sup>1</sup> día de muestreo de la pastura. MS: materia seca; MO: materia orgánica; D.E.: desviación estándar; E.E.: error estándar; CV: coeficiente de variación



Anexo 8. Medio para Hohenheim Gas Test - Universidad de Hohenheim.

| Componentes  | Peso Molecular | Conc. Final | Cantidad |
|--|----------------|-------------|----------|
| <b>Buffer</b>  |                |             |          |
| Bicarbonato de amonio                                  | 79.1           | 0.05 M      | 8.0 g    |
| Bicarbonato de sodio                                   | 84.0           | 0.42 M      | 70.0 g   |
| H <sub>2</sub> O bidestilada                           |                |             | 2000 ml  |
| Volumen Total  |                |             | 2000 ml  |
| <b>Macrominerales</b>                                  |                |             |          |
| Fosfato de sodio dihidrogenado                         | 142.0          | 0.040 M     | 11.4 g   |
| Fosfato de potasio dihidrogenado                       | 136.1          | 0.046 M     | 12.4 g   |
| Sulfato de magnesio 7 x H <sub>2</sub> O               | 246.5          | 0.002       | 1.2 g    |
| Volumen Total enrasar con H <sub>2</sub> O bidestilada |                |             | 2000 ml  |
| <b>Microminerales</b>                                  |                |             |          |
| Cloruro de calcio dihidratado                          | 147.0          | 0.45 M      | 6600 mg  |
| Cloruro de manganeso tetra hidratado                   | 197.9          | 0.25 M      | 5000 mg  |
| Cloruro de cobalto sextihidratado                      | 237.9          | 0.02 M      | 500 mg   |
| Tricloruro Férrico sextihidratado                      | 270.3          | 0.15 M      | 4000 mg  |
| Volumen Total enrasar con H <sub>2</sub> O bidestilada |                |             | 2000 ml  |
| <b>Resaurzina</b>                                      |                |             |          |
| Resaurzina   |                | 0.40%       | 400 mg   |
| Volumen Total,   |                |             | 100 ml   |
| <b>Solución Reductora</b>                              |                |             |          |
| Sulfito de sodio                                       |                |             | 625 mg   |
| Hidróxido de sodio                                     |                | 1 M         | 4 ml     |
| Volumen Total enrasar con H <sub>2</sub> O bidestilada |                |             |          |

Anexo 9. Análisis químico proximal y energía bruta expresados en base seca de las heces de los toretes al pastoreo dosificados con el marcador óxido crómico (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) y dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) durante el periodo de mayor precipitación pluvial.

| Animal | Óxido crómico (Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ) |        |       |        |         |         |            |
|--------|---|--------|-------|--------|---------|---------|------------|
|        | Cz (%)  | MO (%) | N (%) | PC (%) | FDN (%) | FDA (%) | EB (Mj/kg) |
| 1      | 74.3  | 2.2    | 13.5  | 54.3   | 35.6    | 14.4    | 74.3       |
| 2      | 75.4  | 2.2    | 13.6  | 52.3   | 33.5    | 13.8    | 75.4       |
| 3      | 75.5  | 2.1    | 13.4  | 52.8   | 34.3    | 14.4    | 75.5       |
| 5      | 74.9  | 2.2    | 13.6  | 53.2   | 35.8    | 14.5    | 74.9       |
| 7      | 74.9  | 2.2    | 13.5  | 54.9   | 34.1    | 14.5    | 74.9       |
| 11     | 73.5  | 2.2    | 13.6  | 52.5   | 35.2    | 14.4    | 73.5       |
| 12     | 75.6  | 2.1    | 13.3  | 49.4   | 31.5    | 13.6    | 75.6       |
| Media  | 0.0075  | 0.0099 | 2.4   | 3.2    | 67.8    | 7.5     | 9.9        |
| D.E.   | 0.0011  | 0.0015 | 0.4   | 0.5    | 0.7     | 1.1     | 1.5        |
| E.E.   | 0.0003  | 0.0004 | 0.1   | 0.2    | 0.3     | 0.4     | 0.5        |
| Animal | Dióxido de titanio (TiO <sub>2</sub> )          |        |       |        |         |         |            |
|        | Cz (%)  | MO (%) | N (%) | PC (%) | FDN (%) | FDA (%) | EB (Mj/kg) |
| 4      | 72.5  | 2.3    | 14.1  | 52     | 36.1    | 13.8    | 72.5       |
| 6      | 75.1  | 2      | 12.6  | 51     | 32.5    | 14.4    | 75.1       |
| 8      | 73.3  | 2.2    | 13.6  | 53.7   | 35.1    | 14.6    | 73.3       |
| 9      | 73.6  | 2      | 12.8  | 49.9   | 33.5    | 14.6    | 73.6       |
| 10     | 75.3  | 2      | 12.5  | 52.5   | 34.6    | 13.8    | 75.3       |
| 13     | 73.8  | 2.3    | 14.5  | 51.6   | 33.5    | 14.5    | 73.8       |
| 14     | 74.6  | 2.3    | 14.4  | 50.3   | 31.6    | 14.9    | 74.6       |
| Media  | 0.0082  | 0.0108 | 2.3   | 3.0    | 66.0    | 7.2     | 9.5        |
| D.E.   | 0.0018  | 0.0025 | 0.5   | 0.7    | 1.4     | 1.7     | 2.2        |
| E.E.   | 0.0007  | 0.0009 | 0.2   | 0.3    | 0.5     | 0.6     | 0.8        |
| Media  | 25.6  | 74.5   | 2.2   | 13.5   | 52.2    | 34.1    | 14.3       |
| D.E.   | 1.0   | 1.0    | 0.1   | 0.6    | 1.6     | 1.5     | 0.4        |
| E.E.   | 0.3   | 0.3    | 0.0   | 0.2    | 0.4     | 0.4     | 0.1        |
| CV%    | 3.8   | 1.3    | 5.0   | 4.4    | 3.1     | 4.3     | 2.7        |

Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> : óxido crómico; TiO<sub>2</sub>: Dióxido de titanio; Cz: ceniza; MO: materia orgánica; N: nitrógeno; PC: proteína cruda; FDN: fibra detergente neutra; FDA: Fibra detergente ácida; EB: energía bruta; D.E.: desviación estándar; E.E.: error estándar; CV: coeficiente de variación.

Anexo 10. Análisis químico proximal y energía bruta expresados en base seca de las heces de los toretes al pastoreo dosificados con el marcador óxido crómico (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) y dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) durante el periodo de menor precipitación pluvial.

| Animal | Óxido crómico (Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ) |        |       |        |         |         |            |
|--------|---|--------|-------|--------|---------|---------|------------|
|        | Cz (%)  | MO (%) | N (%) | PC (%) | FDN (%) | FDA (%) | EB (Mj/kg) |
| 1      | 24.3  | 75.7   | 2.4   | 15.1   | 52      | 34      | 15.3       |
| 2      | 24.5  | 75.5   | 2.4   | 14.7   | 54.9    | 34.7    | 15.2       |
| 3      | 24.4  | 75.6   | 2.6   | 16     | 52.2    | 34.1    | 15.6       |
| 5      | 25.6  | 74.4   | 2.4   | 15.2   | 53.1    | 33.5    | 15.4       |
| 7      | 25.4  | 74.6   | 2.3   | 14.4   | 53.2    | 36.1    | 13.7       |
| 11     | 24.7  | 75.3   | 2.3   | 14.3   | 52      | 33.9    | 14.6       |
| 12     | 26.2  | 73.8   | 2.6   | 16     | 52.4    | 33.6    | 15.5       |
| Media  | 25.0  | 66.5   | 3.0   | 14.1   | 47.1    | 30.9    | 15.0       |
| D.E.   | 0.7   | 0.7    | 0.1   | 0.7    | 1.0     | 0.9     | 0.7        |
| E.E.   | 0.3   | 0.3    | 0.04  | 0.3    | 0.4     | 0.3     | 0.3        |
| Animal | Dióxido de titanio (TiO <sub>2</sub> )          |        |       |        |         |         |            |
|        | Cz (%)  | MO (%) | N (%) | PC (%) | FDN (%) | FDA (%) | EB (Mj/kg) |
| 4      | 25.9  | 74.1   | 2.3   | 14.5   | 55.2    | 35.8    | 15.1       |
| 6      | 24.8  | 75.2   | 2.6   | 16.1   | 57.8    | 36.1    | 15.2       |
| 8      | 25.1  | 74.9   | 2.3   | 14.5   | 56.6    | 38.2    | 15.1       |
| 9      | 25.3  | 74.7   | 2.4   | 15.2   | 55.9    | 37      | 15.3       |
| 10     | 23.8  | 76.2   | 2.6   | 16     | 57.1    | 38.1    | 15.3       |
| 13     | 24.7  | 75.3   | 2.6   | 16.1   | 51      | 33.7    | 15.3       |
| 14     | 27  | 73     | 2.5   | 15.9   | 52.8    | 32.1    | 15         |
| Media  | 25.2  | 66.3   | 3.0   | 14.4   | 49.2    | 32.3    | 15.2       |
| D.E.   | 1.0   | 1.0    | 0.1   | 0.7    | 2.5     | 2.3     | 0.1        |
| E.E.   | 0.4   | 0.4    | 0.04  | 0.3    | 0.9     | 0.9     | 0.1        |
| Media  | 25.1  | 74.9   | 2.5   | 15.3   | 54.0    | 35.1    | 15.1       |
| D.E.   | 0.9   | 0.9    | 0.1   | 0.7    | 2.2     | 1.8     | 0.5        |
| E.E.   | 0.2   | 0.2    | 0.0   | 0.2    | 0.6     | 0.5     | 0.1        |
| CV%    | 3.4   | 1.1    | 5.2   | 4.7    | 4.1     | 5.3     | 3.1        |

Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> : óxido crómico; TiO<sub>2</sub>: Dióxido de titanio; Cz: ceniza; MO: materia orgánica; N: nitrógeno; PC: proteína cruda; FDN: fibra detergente neutra; FDA: Fibra detergente ácida; EB: energía bruta; D.E.: desviación estándar; E.E.: error estándar; CV: coeficiente de variación.

Anexo 11. Concentraciones de óxido crómico y dióxido de titanio en las heces, excreción fecal de la materia orgánica, materia seca, digestibilidad de la materia orgánica y consumo del forraje de toretes al pastoreo durante el periodo de mayor precipitación pluvial.

| Animal | gCr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /<br>g MS | gCr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /<br>g MO | MO <sub>f</sub><br>(kg <sup>-1</sup> ) | MS <sub>f</sub><br>(kg <sup>-1</sup> ) | DMO <sup>1</sup><br>(%) | CMO<br>(kg <sup>-1</sup> ) | CMS<br>(kg <sup>-1</sup> ) |
|--------|---|---|--|--|-------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 1      | 0.0089                                    | 0.0118                                    | 2.0                                    | 2.7                                    | 67                      | 6.1                        | 8.1                        |
| 2      | 0.0072                                    | 0.0094                                    | 2.5                                    | 3.3                                    | 65.9                    | 7.3                        | 9.6                        |
| 3      | 0.0071                                    | 0.0094                                    | 2.5                                    | 3.3                                    | 64.4                    | 7.1                        | 9.3                        |
| 5      | 0.0064                                    | 0.0084                                    | 2.8                                    | 3.7                                    | 66                      | 8.3                        | 10.9                       |
| 7      | 0.008                                     | 0.0106                                    | 2.2                                    | 2.9                                    | 65.9                    | 6.5                        | 8.6                        |
| 11     | 0.0088                                    | 0.0119                                    | 2.0                                    | 2.7                                    | 67.6                    | 6.1                        | 8.3                        |
| 12     | 0.0071                                    | 0.0093                                    | 2.5                                    | 3.3                                    | 65.3                    | 7.3                        | 9.6                        |
| Media  | 0.0076                                    | 0.0101                                    | 2.4                                    | 3.1                                    | 66.0                    | 7.0                        | 9.2                        |
| D.E.   | 0.0009                                    | 0.0013                                    | 0.3                                    | 0.4                                    | 1.1                     | 0.8                        | 1.0                        |
| E.E.   | 0.0004                                    | 0.0005                                    | 0.1                                    | 0.1                                    | 0.4                     | 0.3                        | 0.4                        |
| Animal | gTiO <sub>2</sub> /g<br>MS                | gTiO <sub>2</sub> /g<br>MO                | MO <sub>f</sub><br>(kg <sup>-1</sup> ) | MS <sub>f</sub><br>(kg <sup>-1</sup> ) | DMO <sup>1</sup><br>(%) | CMO<br>(kg <sup>-1</sup> ) | CMS<br>(kg <sup>-1</sup> ) |
| 4      | 0.0108                                    | 0.0148                                    | 1.6                                    | 2.2                                    | 67.2                    | 4.9                        | 6.7                        |
| 6      | 0.0113                                    | 0.015                                     | 1.6                                    | 2.1                                    | 64.5                    | 4.4                        | 5.9                        |
| 8      | 0.0077                                    | 0.0103                                    | 2.3                                    | 3.1                                    | 66.4                    | 6.8                        | 9.1                        |
| 9      | 0.0069                                    | 0.0093                                    | 2.5                                    | 3.4                                    | 65.1                    | 7.3                        | 9.8                        |
| 10     | 0.0072                                    | 0.0094                                    | 2.5                                    | 3.3                                    | 64                      | 7                          | 9.2                        |
| 13     | 0.0061                                    | 0.0082                                    | 2.9                                    | 3.9                                    | 67.4                    | 8.9                        | 11.8                       |
| 14     | 0.0097                                    | 0.0128                                    | 1.8                                    | 2.4                                    | 67.1                    | 5.6                        | 7.4                        |
| Media  | 0.0085                                    | 0.0114                                    | 2.2                                    | 2.9                                    | 66.0                    | 6.4                        | 8.6                        |
| D.E.   | 0.0020                                    | 0.0028                                    | 0.5                                    | 0.7                                    | 1.4                     | 1.6                        | 2.0                        |
| E.E.   | 0.0008                                    | 0.0011                                    | 0.2                                    | 0.3                                    | 0.5                     | 0.6                        | 0.8                        |
| Media  | 0.0081                                    | 0.0108                                    | 2.3                                    | 3.0                                    | 66.0                    | 6.7                        | 8.9                        |
| D.E.   | 0.0016                                    | 0.0022                                    | 0.4                                    | 0.5                                    | 1.2                     | 1.2                        | 1.6                        |
| E.E.   | 0.0004                                    | 0.0006                                    | 0.1                                    | 0.1                                    | 0.3                     | 0.3                        | 0.4                        |
| CV%    | 19.8                                      | 20.5                                      | 18.2                                   | 17.9                                   | 1.8                     | 18.2                       | 17.6                       |

Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: óxido crómico; TiO<sub>2</sub>: Dióxido de titanio; MO<sub>f</sub>, kg-1: Excreción fecal de materia orgánica; MS<sub>f</sub>, kg-1: Excreción fecal de materia seca; 1DMO, %: Digestibilidad de la materia orgánica (Lukas *et al.* 2005)  $DMO = 72.86 - 107.7 \exp(-0.01515 \cdot \text{fecal CP [g/kg OM]/100})$ ; CMO, kg-1: Consumo medio de materia orgánica del forraje; CMS, kg-1: Consumo medio de materia seca del forraje; D.E.: desviación estándar; E.E.: error estándar; CV: coeficiente de variación.

Anexo 12. Concentraciones de óxido crómico y dióxido de titanio en las heces, excreción fecal de la materia orgánica, materia seca, digestibilidad de la materia orgánica y consumo del forraje de toretes al pastoreo durante el periodo de menor precipitación pluvial

| Animal | gCr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /<br>g MS | gCr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /<br>g MO | MO <sub>f</sub><br>(kg <sup>-1</sup> ) | MS <sub>f</sub><br>(kg <sup>-1</sup> ) | DMO <sup>1</sup><br>(%) | CMO<br>(kg <sup>-1</sup> ) | CMS<br>(kg <sup>-1</sup> ) |
|--------|---|---|--|--|-------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 1      | 0.0092                                    | 0.012                                     | 2                                      | 2.6                                    | 67.6                    | 6.1                        | 8                          |
| 2      | 0.0066                                    | 0.0085                                    | 2.8                                    | 3.6                                    | 67.2                    | 8.5                        | 11                         |
| 3      | 0.0062                                    | 0.0082                                    | 2.9                                    | 3.8                                    | 68.5                    | 9.2                        | 12                         |
| 5      | 0.0079                                    | 0.0105                                    | 2.2                                    | 3                                      | 68                      | 7                          | 9.3                        |
| 7      | 0.0064                                    | 0.0085                                    | 2.8                                    | 3.7                                    | 67.1                    | 8.4                        | 11.1                       |
| 11     | 0.008                                     | 0.0106                                    | 2.2                                    | 2.9                                    | 67.1                    | 6.8                        | 8.9                        |
| 12     | 0.0083                                    | 0.0111                                    | 2.1                                    | 2.8                                    | 68.9                    | 6.8                        | 9.1                        |
| Media  | 0.0075                                    | 0.0099                                    | 2.4                                    | 3.2                                    | 67.8                    | 7.5                        | 9.9                        |
| D.E.   | 0.0011                                    | 0.0015                                    | 0.4                                    | 0.5                                    | 0.7                     | 1.1                        | 1.5                        |
| E.E.   | 0.0003                                    | 0.0004                                    | 0.1                                    | 0.2                                    | 0.3                     | 0.4                        | 0.5                        |
| Animal | gTiO <sub>2</sub> /g<br>MS                | gTiO <sub>2</sub> /g<br>MO                | MO <sub>f</sub><br>(kg <sup>-1</sup> ) | MS <sub>f</sub><br>(kg <sup>-1</sup> ) | DMO <sup>1</sup><br>(%) | CMO<br>(kg <sup>-1</sup> ) | CMS<br>(kg <sup>-1</sup> ) |
| 4      | 0.0086                                    | 0.0114                                    | 2.1                                    | 2.7                                    | 67.2                    | 6.3                        | 8.4                        |
| 6      | 0.009                                     | 0.0118                                    | 2.0                                    | 2.6                                    | 64.5                    | 6.4                        | 8.4                        |
| 8      | 0.0086                                    | 0.0113                                    | 2.1                                    | 2.7                                    | 66.4                    | 6.3                        | 8.3                        |
| 9      | 0.006                                     | 0.0079                                    | 3.0                                    | 4.0                                    | 65.1                    | 9.4                        | 12.4                       |
| 10     | 0.0076                                    | 0.0099                                    | 2.4                                    | 3.1                                    | 64.0                    | 7.6                        | 9.8                        |
| 13     | 0.0061                                    | 0.008                                     | 3.0                                    | 3.9                                    | 67.4                    | 9.5                        | 12.4                       |
| 14     | 0.0112                                    | 0.0152                                    | 1.6                                    | 2.1                                    | 67.1                    | 5.0                        | 6.8                        |
| Media  | 0.0082                                    | 0.0108                                    | 2.3                                    | 3.0                                    | 66.0                    | 7.2                        | 9.5                        |
| D.E.   | 0.0018                                    | 0.0025                                    | 0.5                                    | 0.7                                    | 1.4                     | 1.7                        | 2.2                        |
| E.E.   | 0.0007                                    | 0.0009                                    | 0.2                                    | 0.3                                    | 0.5                     | 0.6                        | 0.8                        |
| Media  | 0.0078                                    | 0.0104                                    | 2.4                                    | 3.1                                    | 66.9                    | 7.4                        | 9.7                        |
| D.E.   | 0.0015                                    | 0.0020                                    | 0.4                                    | 0.6                                    | 1.4                     | 1.4                        | 1.8                        |
| E.E.   | 0.0004                                    | 0.0005                                    | 0.1                                    | 0.2                                    | 0.4                     | 0.4                        | 0.5                        |
| CV%    | 18.9                                      | 19.7                                      | 18.8                                   | 19.0                                   | 2.1                     | 19.0                       | 18.4                       |

Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> : óxido crómico; TiO<sub>2</sub>: Dióxido de titanio; MO<sub>f</sub>, kg-1: Excreción fecal de materia orgánica; MS<sub>f</sub>, kg-1: Excreción fecal de materia seca; 1DMO, %: Digestibilidad de la materia orgánica (Lukas *et al.* 2005)  $DMO = 72.86 - 107.7^{exp(-0.01515 \cdot fecal\ CP [g/kg\ OM]/100)}$ ; CMO, kg-1: Consumo medio de materia orgánica del forraje; CMS, kg-1: Consumo medio de materia seca del forraje; D.E.: desviación estándar; E.E.: error estándar; CV: coeficiente de variación.

Anexo 13 Consumo de nutrientes y energía de los toretes al pastoreo dosificados con el marcador óxido crómico (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) y dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) durante el periodo de mayor y menor precipitación pluvial.

| Torete<br>N° | Marcador | Periodo de mayor precipitación |           |           |          |
|--------------|----------|--------------------------------|-----------|-----------|----------|
|              |          | CPC Kg/d                       | CFDN Kg/d | CFDA Kg/d | CED Mj/d |
| 1            | Cromo    | 0.8                            | 5.5       | 3.1       | 93.4     |
| 2            | Cromo    | 1.0                            | 6.6       | 3.7       | 101.6    |
| 3            | Cromo    | 0.9                            | 6.4       | 3.5       | 79.6     |
| 4            | Cromo    | 1.1                            | 7.5       | 4.1       | 120.7    |
| 5            | Cromo    | 0.9                            | 5.9       | 3.3       | 97.3     |
| 6            | Cromo    | 0.8                            | 5.7       | 3.1       | 98.0     |
| 7            | Cromo    | 1.0                            | 6.6       | 3.6       | 71.5     |
| 8            | Titanio  | 0.7                            | 4.6       | 2.5       | 72.0     |
| 9            | Titanio  | 0.6                            | 4.0       | 2.2       | 66.6     |
| 10           | Titanio  | 0.9                            | 6.3       | 3.5       | 107.4    |
| 11           | Titanio  | 1.0                            | 6.7       | 3.7       | 101.3    |
| 12           | Titanio  | 0.9                            | 6.3       | 3.5       | 117.3    |
| 13           | Titanio  | 0.8                            | 8.1       | 4.5       | 121.6    |
| 14           | Titanio  | 0.5                            | 5.1       | 2.8       | 66.4     |
| Media        |          | 0.9                            | 6.1       | 3.4       | 93.9     |
| D.E.         |          | 0.2                            | 1.1       | 0.6       | 19.7     |
| E.E.         |          | 0.04                           | 0.3       | 0.2       | 5.3      |
| CV (%)       |          | 18.7                           | 17.7      | 17.7      | 21.0     |
| Torete<br>N° | Marcador | Periodo de menor precipitación |           |           |          |
|              |          | CPC Kg/d                       | CFDN Kg/d | CFDA Kg/d | CED Mj/d |
| 1            | Cromo    | 1.0                            | 5.2       | 2.9       | 105.9    |
| 2            | Cromo    | 1.4                            | 7.2       | 4.0       | 111.2    |
| 3            | Cromo    | 1.6                            | 7.9       | 4.4       | 107.6    |
| 4            | Cromo    | 1.2                            | 6.1       | 3.4       | 118.1    |
| 5            | Cromo    | 1.4                            | 7.3       | 4.1       | 106.7    |
| 6            | Cromo    | 1.2                            | 5.8       | 3.3       | 105.6    |
| 7            | Cromo    | 1.2                            | 6.0       | 3.3       | 113.2    |
| 8            | Titanio  | 1.1                            | 5.5       | 3.1       | 86.8     |
| 9            | Titanio  | 1.1                            | 5.5       | 3.0       | 94.3     |
| 10           | Titanio  | 1.1                            | 5.5       | 3.0       | 103.5    |
| 11           | Titanio  | 1.6                            | 8.1       | 4.5       | 120.9    |
| 12           | Titanio  | 1.3                            | 6.4       | 3.6       | 130.6    |
| 13           | Titanio  | 1.6                            | 8.1       | 4.5       | 117.4    |
| 14           | Titanio  | 0.9                            | 4.4       | 2.5       | 93.0     |
| Media        |          | 1.3                            | 6.4       | 3.5       | 108.2    |
| D.E.         |          | 0.2                            | 1.2       | 0.7       | 11.8     |
| E.E.         |          | 0.1                            | 0.3       | 0.2       | 3.2      |
| CV (%)       |          | 18.4                           | 18.4      | 18.4      | 10.9     |

D.E.: desviación estándar; E.E.: error estándar; CV: coeficiente de variación; CPC: consumo de proteína cruda; CFDN: consumo de fibra detergente neutra; CFDA: consumo de fibra detergente ácida; CEB: consumo de energía bruta; CED: consumo energía digestible.

Anexo 14. Emisión de metano *in vitro* de la pastura seleccionada evaluadas a 24 horas de incubación mediante el Hohenheim Gas Test durante los dos periodos de estudio

| Periodo de mayor precipitación |                     |                                |                                |                                    |
|--------------------------------|---------------------|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| Muestra                        | PNGC (ml/200 mg DM) | CH <sub>4</sub> (ml/200 mg DM) | CH <sub>4</sub> (mg/100 mg DM) | CH <sub>4</sub> (g/kg MS incubada) |
| 1                              | 36.4                | 6.5                            | 2.3                            | 23.0                               |
| 2                              | 34.5                | 6.1                            | 2.2                            | 21.7                               |
| 3                              | 34.1                | 6.4                            | 2.3                            | 22.9                               |
| 4                              | 31.7                | 5.9                            | 2.1                            | 21.0                               |
| N                              | 4                   | 4                              | 4                              | 4                                  |
| Media                          | 34.2                | 6.2                            | 2.2                            | 22.2                               |
| D.E.                           | 1.9                 | 0.3                            | 0.1                            | 1.0                                |
| E.E.                           | 1.0                 | 0.1                            | 0.05                           | 0.5                                |
| CV                             | 5.7                 | 4.5                            | 4.3                            | 4.5                                |
| Periodo de menor precipitación |                     |                                |                                |                                    |
| 1                              | 36.2                | 6.5                            | 2.3                            | 22.9                               |
| 2                              | 34.3                | 6.3                            | 2.2                            | 22.4                               |
| 3                              | 33.9                | 6.2                            | 2.2                            | 22.2                               |
| 4                              | 31.3                | 5.7                            | 2.0                            | 20.2                               |
| N                              | 4                   | 4                              | 4                              | 4                                  |
| Media                          | 33.9                | 6.2                            | 2.2                            | 21.9                               |
| D.E.                           | 1.9                 | 0.3                            | 0.1                            | 1.2                                |
| E.E.                           | 0.9                 | 0.2                            | 0.06                           | 0.6                                |
| CV                             | 5.7                 | 5.5                            | 5.5                            | 5.5                                |

D.E.: desviación estándar; E.E.: error estándar; CV: coeficiente de variación; PNGC: Producción neta de gas corregida

Anexo 15. Tasas de permeación de las cápsulas cargadas con hexafluoruro de azufre para ambos periodos de estudio

| Anim.<br>N° | M. E | C.P.<br>N° | P. I.<br>LL | P. I.<br>S | WCP<br>g | C. SF <sub>6</sub><br>Mg | T.P.<br>mg/day | Pérdida SF <sub>6</sub><br>mg/133d | R <sup>2</sup><br>% | VU<br>(mes) |      |
|-------------|------|------------|-------------|------------|----------|--------------------------|----------------|------------------------------------|---------------------|-------------|------|
| 1           | Cr   | 12         | 280         | 337        | 54.18    | 2560.7                   | 6.0229         | 801.0                              | 31.3                | 0.9999      | 9.7  |
| 2           | Cr   | 3          | 322         | 382        | 55.44    | 2175.6                   | 5.2073         | 692.6                              | 31.8                | 0.9998      | 11.2 |
| 3           | Cr   | 21         | 268         | 322        | 56.72    | 2466.4                   | 6.4467         | 857.4                              | 34.8                | 0.9999      | 10.0 |
| 4           | Ti   | 19         | 181         | 249        | 54.50    | 2529.0                   | 5.9486         | 791.2                              | 31.3                | 0.9998      | 11.6 |
| 5           | Cr   | 20         | 382         | 401        | 56.52    | 2468.8                   | 6.0741         | 807.9                              | 32.7                | 0.9999      | 10.9 |
| 6           | Ti   | 22         | 191         | 262        | 56.70    | 2426.8                   | 6.1111         | 812.8                              | 33.5                | 0.9999      | 10.6 |
| 7           | Cr   | 9          | 308         | 359        | 56.13    | 2454.3                   | 5.9432         | 790.4                              | 32.2                | 0.9998      | 11.4 |
| 8           | Ti   | 16         | 301         | 359        | 56.50    | 2490.6                   | 5.6412         | 750.3                              | 30.1                | 0.9998      | 11.8 |
| 9           | Ti   | 1          | 300         | 439        | 56.20    | 2240.8                   | 6.061          | 806.1                              | 36.0                | 0.9999      | 10.8 |
| 10          | Ti   | 18         | 374         | 482        | 55.25    | 2461.1                   | 5.105          | 679.0                              | 27.6                | 0.9995      | 13.0 |
| 11          | Cr   | 24         | 287         | 351        | 55.71    | 2550.5                   | 6.5948         | 877.1                              | 34.4                | 0.9999      | 10.2 |
| 12          | Cr   | 25         | 230         | 344        | 56.50    | 2563.6                   | 5.8418         | 777.0                              | 30.3                | 0.9999      | 11.8 |
| 13          | Ti   | A1         | 329         | 397        | -        | -                        | -              | -                                  | -                   | -           | -    |
| 14          | Ti   | A2         | 165         | 249        | -        | -                        | -              | -                                  | -                   | -           | -    |
| Media       |      |            | 279.9       | 352.4      | 55.8576  | 2449                     | 5.9165         | 786.9                              | 32.2                | 0.9998      | 11.1 |
| D.E.        |      |            | 67.2        | 68.2       | 0.9      | 121.9                    | 0.4349         | 57.8                               | 2.3                 | 0.0001      | 0.9  |
| E.E.        |      |            | 17.9        | 18.2       | 0.2      | 35.2                     | 0.1256         | 0.6                                | 0.1                 | 0           | 0.3  |
| CV %        |      |            | 24.0        | 19.4       | 1.6      | 5.0                      | 7.4            | 6.0                                | 7.2                 | 0.0         | 8.1  |

M.E.: marcador externo; D.E.: desviación estándar; E.E: error estándar; CV: coeficiente de variación; M. E.: marcador externo; C.P.: cápsula de permeación; P. I. LL: peso inicial de los toretes para el periodo de mayor precipitación pluvial; P. I. S: peso inicial de los toretes para el periodo de menor precipitación pluvial; WCP: peso vacío de la capsula de permeación; C.: carga de SF<sub>6</sub>; T.P.: tasa de permeación de la cápsula



Anexo 16. Calibración y cálculo de flujo de líneas capilares (%) para el periodo de mayor precipitación pluvial.

| Línea<br>Nº | Capilar<br>Nº | Flujo (cc/min) |       | Evaluaciones |      |      | Media |
|-------------|---------------|----------------|-------|--------------|------|------|-------|
|             |               | Inicial        | Final | 1            | 2    | 3    |       |
| 1           | 1             | 0.743          | 0.758 | 34.2         | 34.6 | 35.7 | 34.8  |
| 2           | 2             | 0.756          | 0.756 | 31.8         | 32.1 | 32.5 | 32.1  |
| 3           | 3             | 0.726          | 0.726 | 29.8         | 30.4 | 31.1 | 30.4  |
| 4           | 4             | 0.751          | 0.748 | 43.2         | 43.8 | 36.7 | 41.2  |
| 5           | 5             | 0.744          | 0.746 | 35.3         | 35.3 | 36.8 | 35.8  |
| 6           | 6             | 0.751          | 0.754 | 34.4         | 34.9 | 35.4 | 34.9  |
| 7           | 7             | 0.751          | 0.751 | 33.6         | 33.8 | 34.9 | 34.1  |
| 8           | 8             | 0.741          | 0.746 | 34.1         | 34.6 | 35.2 | 34.6  |
| 9           | 9             | 0.743          | 0.747 | 35.9         | 36.1 | 36.7 | 36.2  |
| 10          | 10            | 0.744          | 0.748 | 34.7         | 34.9 | 35.5 | 35.0  |
| 11          | 11            | 0.773          | 0.747 | 35.3         | 35.5 | 36.4 | 35.7  |
| 12          | 12            | 0.756          | 0.751 | 25.3         | 24.4 | 26.5 | 25.4  |
| 13          | 13            | 0.746          | 0.752 | 36.7         | 39.8 | 36.9 | 37.8  |
| 14          | 14            | 0.747          | 0.759 | 41.6         | 41.5 | 42.8 | 42.0  |
| 15          | 15            | 0.756          | 0.758 | 38.3         | 38.6 | 39.1 | 38.7  |
| 16          | 16            | 0.745          | 0.757 | 42.6         | 42.4 | 44   | 43.0  |
| 17          | 17            | 0.752          | 0.756 | 39.5         | 39.8 | 40.6 | 40.0  |
| 18          | 18            | 0.750          | 0.753 | 37.9         | 38.8 | 38.9 | 38.5  |
| 19          | 19            | 0.752          | 0.757 | 38.8         | 38.4 | 39.5 | 38.9  |
| 20          | 20            | 0.753          | 0.759 | 37.5         | 37.6 | 38.7 | 37.9  |
| 21          | 21            | 0.745          | 0.746 | 23.3         | 32.3 | 29.3 | 28.3  |
| 22          | 22            | 0.749          | 0.758 | 33.7         | 34.9 | 35.2 | 34.6  |
| 23          | 23            | 0.756          | 0.759 | 35.2         | 35.6 | 36.2 | 35.7  |
| Media       |               | 0.749          | 0.752 | 35.3         | 36.1 | 36.3 | 35.9  |
| D.E.        |               | 0.01           | 0.01  | 4.8          | 4.2  | 4.0  | 4.2   |

cc: centímetros cúbicos; D.E.: desviación estándar

Anexo 17. Calibración y cálculo de flujo de líneas capilares (%) para el periodo de menor precipitación pluvial.

| Línea<br>Nº | Capilar<br>Nº | Flujo (cc/min) |       | Evaluaciones |      |      |      | Media |
|-------------|---------------|----------------|-------|--------------|------|------|------|-------|
|             |               | Inicial        | Final | 1            | 2    | 3    | 4    |       |
| 1           | 1             | 0.743          | 0.758 | 33.3         | 32   | 31.1 | 34.3 | 32.7  |
| 2           | 2             | 0.726          | 0.726 | 29.4         | 27.8 | 27.8 | 29.4 | 28.6  |
| 3           | 3             | 0.751          | 0.751 | 31.9         | 31   | 30.3 | 32.2 | 31.4  |
| 4           | 4             | 0.741          | 0.746 | 30.7         | 30   | 29.6 | 31.2 | 30.4  |
| 5           | 5             | 0.743          | 0.747 | 33.8         | 32.3 | 32.3 | 34.2 | 33.1  |
| 6           | 6             | 0.773          | 0.747 | 32.6         | 31.5 | 30.9 | 33.9 | 32.2  |
| 7           | 7             | 0.756          | 0.751 | 31.2         | 29.8 | 29.8 | 31.1 | 30.5  |
| 8           | 8             | 0.747          | 0.759 | 35.3         | 34.2 | 33.6 | 36.7 | 34.9  |
| 9           | 9             | 0.756          | 0.758 | 36.3         | 35   | 34.7 | 36.8 | 35.7  |
| 10          | 10            | 0.745          | 0.757 | 36.3         | 35.5 | 35.1 | 37.2 | 36.0  |
| 11          | 11            | 0.752          | 0.756 | 29.4         | 27.6 | 27.4 | 28.7 | 28.3  |
| 12          | 12            | 0.75           | 0.753 | 36.8         | 35.6 | 35.2 | 37.5 | 36.3  |
| 13          | 13            | 0.752          | 0.757 | 34.5         | 33.1 | 32.4 | 35.4 | 33.8  |
| 14          | 14            | 0.753          | 0.759 | 34.9         | 33.9 | 32.9 |      | 33.9  |
| 15          | 15            | 0.745          | 0.746 | 25.8         | 24.7 | 24.5 | 25.9 | 25.2  |
| 16          | 16            | 0.749          | 0.758 | 25.2         | 26.5 |      | 25.2 | 25.6  |
| 17          | 17            | 0.756          | 0.759 | 31           | 29.8 | 29.5 | 31.2 | 30.4  |
| 18          | 18            | 0.756          | 0.756 | 31.2         | 29.8 | 29.9 | 32.1 | 30.8  |
| 19          | 19            | 0.756          | 0.751 | 31.4         | 28.3 | 27   | 30.7 | 29.4  |
| 20          | 20            | 0.743          | 0.747 | 33.7         | 32   | 31.6 | 33.0 | 32.6  |
| 21          | 21            | 0.726          | 0.726 | 30.4         | 28.7 | 29   | 29.8 | 29.5  |
| 22          | 22            | 0.756          | 0.756 | 32.4         | 31   | 30.7 | 32.1 | 31.6  |
| 23          | 23            | 0.749          | 0.758 | 29.4         | 28.9 | 28.1 | 29.6 | 29.0  |
| 24          | 24            | 0.756          | 0.751 | 27.1         | 25.6 | 23.3 | 26.7 | 25.7  |
| 25          | 25            | 0.745          | 0.746 | 27.8         | 26.4 | 25.4 | 27.9 | 26.9  |
| 26          | 26            | 0.756          | 0.759 | 33.9         | 32.5 | 31.9 | 33.6 | 33.0  |
| Media       |               | 0.750          | 0.752 | 31.8         | 30.6 | 30.2 | 31.8 | 31.1  |
| D.E.        |               | 0.01           | 0.01  | 4.8          | 4.2  | 4.0  | 4.2  | 5.2   |

cc: centímetros cúbicos; D.E.: desviación estándar

Anexo 18. Calibración de cánisters para el periodo de mayor precipitación pluvial.

| Cánisters | P. I<br>mbar | P. F<br>mbar | Diferencia<br>mbar | Pérdida (%) |
|-----------|--------------|--------------|--------------------|-------------|
| 1         | 932.5        | 911.5        | 21.0               | 2.3         |
| 2         | 931.2        | 911.0        | 20.2               | 2.2         |
| 3         | 932.0        | 910.0        | 22.0               | 2.4         |
| 4         | 934.0        | 913.0        | 21.0               | 2.2         |
| 9         | 932.7        | 912.3        | 20.3               | 2.2         |
| 11        | 933.0        | 919.0        | 14.0               | 1.5         |
| 12        | 931.5        | 909.5        | 22.0               | 2.4         |
| 13        | 932.0        | 914.5        | 17.5               | 1.9         |
| 15        | 932.3        | 913.8        | 18.5               | 2.0         |
| 16        | 931.7        | 905.0        | 26.7               | 2.9         |
| 18        | 932.0        | 912.3        | 19.8               | 2.1         |
| 19        | 932.3        | 916.0        | 16.3               | 1.7         |
| 20        | 931.7        | 916.7        | 15.0               | 1.6         |
| 21        | 932.3        | 909.8        | 22.5               | 2.4         |
| 23        | 930.0        | 917.0        | 3.3                | 1.4         |
| 26        | 932.8        | 911.5        | 21.3               | 2.3         |
| 27        | 931.7        | 912.3        | 19.3               | 2.1         |
| 30        | 932.8        | 913.3        | 19.5               | 2.1         |
| 32        | 931.3        | 910.0        | 21.3               | 2.3         |
| 35        | 932.5        | 909.5        | 23.0               | 2.5         |
| 36        | 934.0        | 908.0        | 26.0               | 2.8         |
| 37        | 930.3        | 915.0        | 15.3               | 1.6         |
| 39        | 932.8        | 912.3        | 20.5               | 2.2         |
| 41        | 933.3        | 912.3        | 21.0               | 2.3         |
| 42        | 931.2        | 912.0        | 19.2               | 2.1         |
| 43        | 931.8        | 908.8        | 23.0               | 2.5         |
| 44        | 932.0        | 910.3        | 21.8               | 2.3         |
| 45        | 931.8        | 909.5        | 22.3               | 2.4         |
| 46        | 931.3        | 905.7        | 25.7               | 2.8         |
| 47        | 934.0        | 909.5        | 24.5               | 2.6         |
| 49        | 932.0        | 910.0        | 22.0               | 2.4         |
| 50        | 935.0        | 915.5        | 19.5               | 2.1         |
| 51        | 931.0        | 912.5        | 18.5               | 2.0         |
| Prototipo | 931.5        | 913.0        | 18.5               | 2.0         |
| Media     | 932          | 912          | 20                 | 2.2         |
| D.E.      | 1.1          | 3.1          | 4.2                | 0.3         |

P. I: presión inicial del cánisters; P.F: presión final después de 72 horas; mbar: milibar; D.E.: desviación estándar

Anexo 19. Calibración de cánisters para el periodo de menor precipitación pluvial.

| Cánisters | P. I<br>mbar | P. F<br>mbar | Diferencia<br>mbar | Pérdida (%) |
|-----------|--------------|--------------|--------------------|-------------|
| 1         | 927.3        | 909.3        | 18.0               | 1.9         |
| 2         | 928.8        | 910.8        | 18.0               | 1.9         |
| 3         | 928.5        | 911.8        | 16.8               | 1.8         |
| 4         | 928.2        | 911.4        | 16.8               | 1.8         |
| 9         | 928.4        | 911.6        | 16.8               | 1.8         |
| 12        | 927.0        | 911.3        | 15.8               | 1.7         |
| 13        | 929.5        | 913.5        | 16.0               | 1.7         |
| 15        | 933.0        | 910.0        | 23.0               | 2.5         |
| 16        | 928.5        | 909.5        | 19.0               | 2.0         |
| 18        | 928.8        | 911.8        | 17.0               | 1.8         |
| 20        | 928.8        | 912.0        | 16.8               | 1.8         |
| 21        | 933.0        | 911.0        | 22.0               | 2.4         |
| 23        | 928.5        | 911.0        | 17.5               | 1.9         |
| 27        | 928.6        | 909.8        | 18.8               | 2.0         |
| 29        | 928.0        | 911.2        | 16.8               | 1.8         |
| 30        | 929.0        | 911.5        | 17.5               | 1.9         |
| 32        | 928.0        | 912.4        | 15.6               | 1.7         |
| 35        | 928.0        | 912.2        | 15.8               | 1.7         |
| 36        | 928.5        | 910.3        | 18.3               | 2.0         |
| 37        | 927.8        | 913.5        | 14.3               | 1.5         |
| 39        | 927.8        | 912.6        | 15.2               | 1.6         |
| 41        | 928.8        | 911.0        | 17.8               | 1.9         |
| 42        | 929.0        | 911.0        | 18.0               | 1.9         |
| 43        | 927.5        | 910.3        | 17.3               | 1.9         |
| 44        | 928.0        | 911.2        | 16.8               | 1.8         |
| 45        | 927.6        | 911.8        | 15.8               | 1.7         |
| 46        | 927.8        | 911.4        | 16.4               | 1.8         |
| 47        | 928.2        | 908.8        | 19.4               | 2.1         |
| 49        | 926.0        | 908.0        | 18.0               | 1.9         |
| 50        | 928.8        | 911.0        | 17.8               | 1.9         |
| 51        | 928.4        | 911.2        | 17.2               | 1.9         |
| Prototipo | 929.0        | 909.7        | 19.3               | 2.1         |
| Media     | 929          | 911          | 17                 | 1.9         |
| D.E.      | 1.4          | 1.2          | 1.8                | 0.2         |

P. I: presión inicial del cánisters; P.F: presión final después de 72 horas; mbar: milibar; D.E.: desviación estándar

Anexo 20. Emisión de metano por toretes al pastoreo mediante la técnica del hexafluoruro de azufre (SF<sub>6</sub>) en condiciones de selva alta durante ambos periodos

| Marcador   | Torete | Días (Periodo de mayor precipitación) |       |       |       |       |       |       |       |       | Media/<br>torete       | D.E.        | CV<br>(%) |
|------------|--------|---------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------------------------|-------------|-----------|
|            |        | 1                                     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |                        |             |           |
| Cr         | 1      | 155.4                                 | 150.7 | 180.3 | 159.4 | 174.7 | 165.1 | 149.8 | 187.3 | 165.4 | 165.3                  | 13.2        | 8.0       |
| Cr         | 2      | -                                     | 202.9 | -     | 193.6 | 199.0 | 170.6 | 214.3 | 233.2 | 186.2 | 200.0                  | 20.0        | 10.0      |
| Cr         | 3      | -                                     | 141.2 | 124.4 | 153.7 | 143.4 | 146.6 | 162.3 | 156.5 | -     | 146.9                  | 12.4        | 8.5       |
| Cr         | 5      | -                                     | -     | -     | 106.3 | 118.3 | 104.6 | 112.1 | 115.0 | 120.8 | 112.8                  | 6.5         | 5.7       |
| Cr         | 7      | 166.3                                 | -     | -     | 177.1 | 202.7 | 163.0 | 257.9 | 284.2 | 304.0 | 222.2                  | 59.0        | 26.5      |
| Cr         | 11     | -                                     | -     | -     | -     | -     | -     | 134.4 | 154.8 | 142.0 | 143.7                  | 10.3        | 7.2       |
| Cr         | 12     | -                                     | 163.9 | 177.5 | -     | 142.0 | 181.1 | 179.4 | 215.1 | 162.0 | 174.4                  | 22.6        | 12.9      |
| Ti         | 4      | -                                     | 149.4 | -     | 233.2 | 221.1 | -     | 274.5 | 194.9 | 285.4 | 226.4                  | 50.6        | 22.3      |
| Ti         | 6      | 140.0                                 | 118.3 | 161.3 | 183.7 | 186.7 | 167.5 | 164.6 | 161.5 | 110.7 | 154.9                  | 26.7        | 17.2      |
| Ti         | 8      | 152.0                                 | 138.6 | -     | -     | 199.4 | 283.3 | 251.0 | 342.6 | 190.6 | 222.5                  | 73.6        | 33.1      |
| Ti         | 9      | 189.1                                 | 175.7 | 202.1 | 172.8 | 210.5 | 170.3 | 183.3 | 206.8 | 183.8 | 188.3                  | 15.0        | 8.0       |
| Ti         | 10     | 168.9                                 | -     | -     | 164.1 | 159.8 | 139.9 | 157.2 | 164.8 | 168.9 | 160.5                  | 10.1        | 6.3       |
| Media/ día |        | 161.9                                 | 155.1 | 169.1 | 171.5 | 178.0 | 169.2 | 186.7 | 201.4 | 183.6 | 176.5                  | $\bar{x}/d$ | 175.2     |
| sd ±       |        | 16.9                                  | 25.8  | 28.9  | 34.0  | 33.0  | 45.7  | 51.7  | 62.4  | 60.8  | 36.0                   | sd ±        | 39.9      |
| CV%        |        | 10.4                                  | 16.6  | 17.1  | 19.8  | 18.5  | 27.0  | 27.7  | 31.0  | 33.1  | 20.4                   | CV%         | 22.8      |
| Marcador   | Torete | Días (Periodo de menor precipitación) |       |       |       |       |       |       |       |       | Media<br>por<br>animal | D.E.        | CV<br>(%) |
|            |        | 1                                     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |                        |             |           |
| Cr         | 1      | -                                     | 233.3 | 242.3 | -     | 300.4 | 290.5 | 345.9 | -     | 208.4 | 270.1                  | 51.0        | 18.9      |
| Cr         | 2      | -                                     | 288.3 | 269.0 | 280.1 | -     | -     | -     | 236.4 | 385.0 | 291.8                  | 55.7        | 19.1      |
| Cr         | 3      | 223.4                                 | 297.4 | 340.5 | 277.7 | 283.7 | 354.3 | 287.0 | 259.5 | 301.6 | 291.7                  | 39.4        | 13.5      |
| Cr         | 5      | 242.1                                 | 209.3 | -     | -     | 383.7 | 381.3 | 366.0 | -     | -     | 316.5                  | 84.0        | 26.5      |
| Cr         | 7      | 269.2                                 | -     | 386.6 | 333.0 | 275.0 | 354.6 | 305.3 | 316.7 | 304.0 | 318.0                  | 39.4        | 12.4      |
| Cr         | 11     | 358.6                                 | 391.9 | -     | 362.0 | 399.0 | 336.0 | 315.6 | 285.5 | 308.4 | 344.6                  | 40.4        | 11.7      |
| Cr         | 12     | 307.3                                 | -     | -     | -     | -     | 210.2 | -     | -     | 228.1 | 248.5                  | 51.7        | 20.8      |
| Ti         | 4      | -                                     | 212.3 | 254.3 | 266.7 | 246.9 | 221.6 | 249.9 | -     | 242.6 | 242.1                  | 18.9        | 7.8       |
| Ti         | 6      | 404.9                                 | 349.9 | 408.0 | 415.4 | 308.6 | 330.2 | 307.8 | -     | 397.5 | 365.3                  | 46.2        | 12.6      |
| Ti         | 8      | -                                     | -     | -     | -     | 215.3 | -     | 247.5 | 305.1 | 270.3 | 259.6                  | 37.8        | 14.6      |
| Ti         | 9      | -                                     | 396.0 | -     | 356.9 | 287.8 | 282.8 | 275.4 | 279.9 | 312.6 | 313.1                  | 46.3        | 14.8      |
| Ti         | 10     | -                                     | 231.2 | 273.3 | 345.6 | 413.0 | 326.5 | 352.5 | 241.4 | 214.0 | 299.7                  | 70.3        | 23.4      |
| Media/ día |        | 300.9                                 | 289.9 | 310.6 | 329.7 | 311.3 | 308.8 | 305.3 | 274.9 | 288.4 | 296.7                  | $\bar{x}/d$ | 302.2     |
| sd ±       |        | 70.2                                  | 74.6  | 67.2  | 51.4  | 66.1  | 57.0  | 41.2  | 30.6  | 63.7  | 37.6                   | sd ±        | 57.4      |
| CV %       |        | 23.3                                  | 25.7  | 21.6  | 15.6  | 21.2  | 18.5  | 13.5  | 11.1  | 22.1  | 12.7                   | CV%         | 19.0      |

(-) Datos perdidos. D.E.: desviación estándar; CV: coeficiente de variación

Anexo 21. Metano entérico estimado mediante la técnica SF<sub>6</sub> expresada como emisión absoluta diaria y por unidad de consumo pastoreo de toretes de carne durante ambos periodos

| M. E   | Torete | CH <sub>4</sub> (Periodo de mayor precipitación) |                           |          |                             |          |          |           | Ym (%) |
|--|--------|--|---------------------------|----------|-----------------------------|----------|----------|-----------|--------|
|  |        | g/torete   | g/kg PV <sup>0.75</sup> ) | g/Kg GDP | g CH <sub>4</sub> /d/K g PV | g/Kg MSC | g/Kg MOC | g/Kg FDNC |        |
| Cr   | 1      | 165.5  | 1.4                       | 319.4    | 0.6                         | 20.5     | 27.3     | 29.9      | 7.1    |
| Cr   | 2      | 186.6  | 1.5                       | 342.2    | 0.6                         | 19.4     | 25.4     | 28.3      | 6.8    |
| Cr   | 3      | 159.5  | 1.1                       | 324.9    | 0.6                         | 17.1     | 22.5     | 25.0      | 6.0    |
| Cr   | 5      | 216.8  | 1.7                       | 1255.3   | 0.6                         | 19.9     | 26.2     | 29.0      | 6.9    |
| Cr   | 7      | 179.6  | 1.5                       | 387.4    | 0.6                         | 20.8     | 27.5     | 30.4      | 7.2    |
| Cr   | 11     | 169.0  | 1.4                       | 290.5    | 0.6                         | 20.5     | 27.6     | 29.9      | 7.1    |
| Cr   | 12     | 140.4  | 0.9                       | 135.5    | 0.6                         | 14.6     | 19.2     | 21.3      | 5.1    |
| Ti   | 4      | 135.6  | 1.0                       | 219.4    | 0.7                         | 20.3     | 27.8     | 29.7      | 7.1    |
| Ti   | 6      | 140.7  | 1.2                       | 217.9    | 0.7                         | 23.9     | 31.7     | 34.9      | 8.3    |
| Ti   | 8      | 196.0  | 1.6                       | 371.7    | 0.7                         | 21.5     | 28.8     | 31.3      | 7.5    |
| Ti   | 9      | 195.5  | 1.4                       | 154.7    | 0.7                         | 20.0     | 26.9     | 29.2      | 7.0    |
| Ti   | 10     | 232.7  | 2.2                       | 237.0    | 0.6                         | 25.4     | 33.4     | 37.1      | 8.8    |
| Media  |        | 176.5  | 0.3                       | 354.7    | 0.6                         | 20.3     | 27.0     | 29.7      | 7.1    |
| D.E.   |        | 30.7   | 0.1                       | 295.1    | 0.1                         | 2.8      | 3.7      | 4.0       | 1.0    |
| E.E.   |        | 8.9  | 24.1                      | 85.2     | 0.02                        | 0.8      | 1.1      | 1.2       | 0.3    |
| CV   |        | 17.4   | 1.4                       | 83.2     | 9.6                         | 13.6     | 13.7     | 13.6      | 13.6   |
| CH <sub>4</sub> (Periodo de menor precipitación) |        |  |                           |          |                             |          |          |           |        |
| Cr   | 1      | 296.2  | 2.9                       | 474.9    | 0.8                         | 37.2     | 48.6     | 53.2      | 12.7   |
| Cr   | 2      | 298.9  | 2.3                       | 461.9    | 0.8                         | 27.2     | 35.3     | 38.9      | 9.3    |
| Cr   | 3      | 295.3  | 1.9                       | 500.6    | 0.9                         | 24.6     | 32.1     | 35.2      | 8.4    |
| Cr   | 5      | 300.0  | 2.9                       | 1654.7   | 0.8                         | 32.2     | 42.7     | 46.1      | 11.0   |
| Cr   | 7      | 297.5  | 2.2                       | 550.5    | 0.9                         | 26.7     | 35.4     | 38.2      | 9.1    |
| Cr   | 11     | 297.0  | 2.7                       | 417.4    | 1.0                         | 33.3     | 43.7     | 47.5      | 11.3   |
| Cr   | 12     | 296.6  | 2.6                       | 191.4    | 0.7                         | 32.6     | 43.4     | 46.6      | 11.1   |
| Ti   | 4      | 289.3  | 2.2                       | 340.2    | 1.0                         | 34.4     | 45.6     | 49.1      | 11.7   |
| Ti   | 6      | 290.1  | 2.3                       | 327.7    | 1.4                         | 34.7     | 45.4     | 49.6      | 11.8   |
| Ti   | 8      | 295.9  | 2.9                       | 470.6    | 0.7                         | 35.5     | 46.6     | 50.7      | 12.1   |
| Ti   | 9      | 300.7  | 2.3                       | 162.6    | 0.7                         | 24.3     | 32.1     | 34.7      | 8.3    |
| Ti   | 10     | 303.3  | 3.2                       | 239.7    | 0.6                         | 30.9     | 40.1     | 44.2      | 10.5   |
| Media  |        | 296.8  | 2.5                       | 482.7    | 0.9                         | 31.1     | 40.9     | 47.6      | 10.6   |
| D.E.   |        | 37.6   | 0.4                       | 390.1    | 0.2                         | 4.4      | 5.8      | 6.7       | 1.5    |
| E.E.   |        | 10.9   | 0.1                       | 112.6    | 0.1                         | 1.3      | 1.7      | 1.9       | 0.4    |
| CV   |        | 12.7   | 15.7                      | 80.8     | 23.6                        | 14.1     | 14.2     | 14.1      | 14.1   |

M.E.: marcador externo: Cr.: óxido crómico; dióxido de titanio; PV<sup>0.75</sup>: peso metabólico; DDP: ganancia diaria de peso; MSC: materia seca consumida; MOC: materia orgánica consumida; FDNC: fibra detergente neutra consumida; Ym (%): Factor de conversión de CH<sub>4</sub>

Anexo 22. Emisiones de metano entérico a Nivel 2 de acuerdo con las directrices del IPCC  
(2006)

Calcular los requerimientos energéticos de mantenimiento, actividad física y crecimiento.

$$ENm \text{ (Mj/d)} = Cfi \times PV^{0.75}$$

Cfi (Mj/d/kg) = coeficiente a situación alimenticia del animal

$$Cfi \text{ toros} = 0.37$$

Adicionar 15% Cfi para machos enteros

$$ENact \text{ (Mj/d)} = Ca \times ENm$$

Ca = 0.17, si alta disponibilidad de pasto

Ca = 0.36, si baja disponibilidad de pasto

$$ENcrec \text{ (Mj/d)} = 22.02 \times [(PV/C \times MW) \times WG^{1.097}]$$

C = coeficiente toros

$$C = 1.2 \text{ (NRC, 1996)}$$

Calcular la relación de energía disponible de la dieta y la energía digerible consumida (REM):

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

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

Calcular la relación de energía disponible de la dieta para crecimiento y la energía digerible consumida (REG):

$$REG = [1.164 - (5.160 \times 10^{-3} \times ED) + (1.308 \times 10^{-5} \times ED^2)] - [37.4/ED]$$

ED = es la energía digestible como porcentaje de la energía bruta

Calcular el consumo de energía bruta (EB) en MJ por día:

$$EBC \left( \frac{Mj}{D} \right) = EB \left( \frac{Mj}{kg} \right) \times MSC \left( \frac{kg}{d} \right)$$

$$EB \left( \frac{Mj}{g} \right) = \frac{[(ENm + ENaCT) / REM] + (ENcrec. / REG)}{ED / 100}$$

$$MSC = PV^{0.75} \left[ \frac{0.2444 \times ENma - 0.0111 \times ENma^2 - 0.472}{ENma} \right]$$

ENma(Mj/kg) = Concentración de energía neta dietaria según tipo de dieta.

| Tipo de dieta                                     | ENma (Mj/kgMS) |
|---|----------------|
| Dieta alto en granos (>90%)                       | 7.5 – 8.5      |
| Forraje alta calidad (leguminosas y gramíneas)    | 6.5 – 7.5      |
| Forraje mediana calidad (leguminosas y gramíneas) | 5.5 – 6.5      |
| Forraje baja calidad (pajas y gramíneas maduras)  | 3.5 – 5.5      |

Calcular el factor de emisión (FE)

$$FE \left( \frac{kg}{\text{animal año}} \right) = \frac{EBC \times \frac{Ym}{100} \times 365}{55.65}$$

Ym = es el factor de conversión en metano que representa el porcentaje de la energía bruta del alimento convertida en metano;

Ym = 6.5 % ± 1.0 para sistemas de manejo al pastoreo

55.65 es el contenido de energía del metano (MJ/kg CH<sub>4</sub>)

Anexo 23. Metano entérico estimado mediante las directrices del IPCC (2006) expresada como emisión absoluta diaria de toretes de carne durante ambos periodos

| Periodo de mayor precipitación |       |          |      |       |      |      |      |      |     |     |         |       |       |
|--------------------------------|-------|----------|------|-------|------|------|------|------|-----|-----|---------|-------|-------|
| T                              | P.I.  | GDP      | DMS  | PM    | MSI  | ENm  | ENa  | ENc  | REM | REG | EBI     | FE    | FE    |
| N°                             | kg    | (Kg/a/d) | %    | Kg    | kg   | Mj/d | Mj/d | Mj/d |     |     | Mj/kg/d |       |       |
| 1                              | 280   | 0.52     | 67.0 | 68.4  | 6.8  | 29.1 | 5.0  | 5.6  | 0.5 | 0.3 | 122.7   | 52.3  | 143.3 |
| 2                              | 322   | 0.55     | 65.9 | 76.0  | 7.5  | 32.3 | 5.5  | 6.8  | 0.5 | 0.3 | 142.8   | 60.9  | 166.8 |
| 3                              | 268   | 0.49     | 64.4 | 66.2  | 6.6  | 28.2 | 4.8  | 5.0  | 0.5 | 0.3 | 124.5   | 53.1  | 145.4 |
| 5                              | 382   | 0.17     | 66.0 | 86.4  | 8.6  | 36.8 | 6.3  | 2.3  | 0.5 | 0.3 | 135.8   | 57.9  | 158.6 |
| 7                              | 308   | 0.46     | 65.9 | 73.5  | 7.3  | 31.3 | 5.3  | 5.4  | 0.5 | 0.3 | 132.6   | 56.5  | 154.9 |
| 11                             | 287   | 0.58     | 67.6 | 69.7  | 6.9  | 29.7 | 5.0  | 6.5  | 0.5 | 0.3 | 127.1   | 54.2  | 148.5 |
| 12                             | 230   | 1.04     | 65.3 | 59.1  | 5.9  | 25.1 | 4.3  | 9.8  | 0.5 | 0.3 | 134.6   | 57.4  | 157.2 |
| 4                              | 181   | 0.62     | 67.2 | 49.3  | 4.9  | 21.0 | 3.6  | 4.4  | 0.5 | 0.3 | 89.7    | 38.2  | 104.7 |
| 6                              | 191   | 0.65     | 64.5 | 51.4  | 5.1  | 21.9 | 3.7  | 4.8  | 0.5 | 0.3 | 101.2   | 43.1  | 118.2 |
| 8                              | 301   | 0.53     | 66.4 | 72.3  | 7.2  | 30.7 | 5.2  | 6.1  | 0.5 | 0.3 | 132.5   | 56.5  | 154.8 |
| 9                              | 300   | 1.26     | 65.1 | 72.1  | 7.1  | 30.7 | 5.2  | 15.8 | 0.5 | 0.3 | 184.6   | 78.7  | 215.6 |
| 10                             | 374   | 0.98     | 64.0 | 85.0  | 8.4  | 36.2 | 6.2  | 14.9 | 0.5 | 0.3 | 205.6   | 87.7  | 240.2 |
| 13                             | 329   | 0.62     | 67.4 | 77.2  | 7.7  | 32.9 | 5.6  | 7.9  | 0.5 | 0.3 | 144.9   | 61.8  | 169.3 |
| 14                             | 165   | 0.76     | 67.1 | 46.0  | 4.6  | 19.6 | 3.3  | 5.0  | 0.5 | 0.3 | 88.3    | 37.6  | 103.1 |
| $\bar{x}$                      | 279.9 | 0.7      | 66.0 | 68.1  | 6.7  | 29.0 | 4.9  | 7.2  | 0.5 | 0.3 | 133.3   | 56.8  | 155.7 |
| Periodo de menor precipitación |       |          |      |       |      |      |      |      |     |     |         |       |       |
| 1                              | 337   | 0.62     | 67.6 | 78.7  | 7.8  | 33.5 | 5.7  | 8.2  | 0.5 | 0.3 | 147.3   | 62.8  | 172.0 |
| 2                              | 382   | 0.65     | 67.2 | 86.4  | 8.6  | 36.8 | 6.3  | 9.7  | 0.5 | 0.3 | 166.4   | 70.9  | 194.3 |
| 3                              | 322   | 0.59     | 68.5 | 76.0  | 7.5  | 32.3 | 5.5  | 7.4  | 0.5 | 0.3 | 137.1   | 58.5  | 160.1 |
| 5                              | 401   | 0.18     | 68.0 | 89.6  | 8.9  | 38.1 | 6.5  | 2.5  | 0.5 | 0.3 | 135.6   | 57.8  | 158.3 |
| 7                              | 359   | 0.54     | 67.1 | 82.5  | 8.2  | 35.1 | 6.0  | 7.5  | 0.5 | 0.3 | 151.2   | 64.5  | 176.6 |
| 11                             | 351   | 0.71     | 67.1 | 81.1  | 8.0  | 34.5 | 5.9  | 9.9  | 0.5 | 0.3 | 160.3   | 68.3  | 187.2 |
| 12                             | 344   | 1.55     | 68.9 | 79.9  | 7.9  | 34.0 | 5.8  | 22.7 | 0.5 | 0.3 | 209.2   | 89.2  | 244.4 |
| 4                              | 249   | 0.85     | 67.3 | 62.7  | 6.2  | 26.7 | 4.5  | 8.5  | 0.5 | 0.3 | 127.3   | 54.3  | 148.7 |
| 6                              | 262   | 0.89     | 68.6 | 65.1  | 6.5  | 27.7 | 4.7  | 9.3  | 0.5 | 0.3 | 130.7   | 55.7  | 152.7 |
| 8                              | 359   | 0.63     | 67.1 | 82.5  | 8.2  | 35.1 | 6.0  | 8.8  | 0.5 | 0.3 | 157.4   | 67.1  | 183.8 |
| 9                              | 439   | 1.85     | 67.9 | 95.9  | 9.5  | 40.8 | 6.9  | 35.1 | 0.5 | 0.3 | 292.8   | 124.8 | 342.0 |
| 10                             | 482   | 1.27     | 68.4 | 102.9 | 10.2 | 43.8 | 7.4  | 25.4 | 0.5 | 0.3 | 255.7   | 109.0 | 298.7 |
| 13                             | 397   | 0.75     | 68.6 | 88.9  | 8.8  | 37.8 | 6.4  | 11.7 | 0.5 | 0.3 | 174.1   | 74.2  | 203.3 |
| 14                             | 249   | 1.15     | 68.9 | 62.7  | 6.2  | 26.7 | 4.5  | 11.9 | 0.5 | 0.3 | 137.9   | 58.8  | 161.0 |
| $\bar{x}$                      | 352.4 | 0.9      | 67.9 | 81.1  | 8.0  | 34.5 | 5.9  | 12.8 | 0.5 | 0.3 | 170.2   | 72.6  | 198.8 |

T: torete; P.I.: peso inicial; GDP: ganancia diaria promedio; DMS: digestibilidad de la materia seca; PM: peso metabólico; MSI: materia seca ingerida; ENm: energía neta de mantenimiento; ENa: energía neta para actividad física; ENc: energía neta para crecimiento; REM: relación de energía disponible de la dieta y la energía digerible consumida; REG: relación de energía disponible de la dieta para crecimiento y la energía digerible consumida; EBI: energía bruta ingerida; FE: factor de emisión de metano entérico.



## Anexo 24. Procedimiento para estimar la emisión de metano entérico con el *software* LifeSim

El modelo está organizado en 3 ventanas principales:

- Datos, que se utiliza para genera la información detallada del animal; del clima; del pasto, los suplementos y los costos.
- Gestión de archivos, que está relacionado con la generación de la base de datos, modificación, recuperación de datos (archivo), Así mismo, guardar una base de datos.
- Simulación, la ventana de simulación permite al usuario escribir una descripción del escenario a simular. Así mismo, el modelo lo permite al usuario comparar hasta 9 escenarios. Una vez que se ha completado el noveno escenario, se deben guardar las salidas de tipo "resumen" (salidas de texto) y eliminar las simulaciones completas de la memoria de la computadora usando la opción "Borrar escenarios".

En la ventana DATOS (Condiciones), se agrupan las entradas: animal, clima, pastura y suplementos, y costos, ingresar la información requerida para cada una de estas entradas.

Entrada ANIMAL:

Ingresar:

Raza o cruce;

Peso corporal, en kg y en un rango entre  $60 \leq \text{peso} \leq 400$  (cualquier valor más allá de los límites será ignorado);

Edad, en años, por lo tanto, si la edad del animal es en meses, necesitará una transformación a años (según tabla de la ventana ayuda)

Ingesta potencial de materia seca, que está definida como la ingesta mayor que un animal puede lograr en función de su limitación física (capacidad ruminal). El modelo solo considera un rango entre 2.8% a 5.6% de su peso corporal. Más allá de estos límites, el modelo subestimaré o sobreestimaré las variables de respuesta.

Variación potencial de consumo, esta variable permite que el modelo modifique la ingesta diaria de materia seca mediante el uso de un valor aleatorio, dentro del rango seleccionado por el usuario. Dado que la función del modelo se basa en la ingesta voluntaria, es necesario un punto de partida para la variabilidad de todos los parámetros resultantes (Modelo estocástico).

Entrada CLIMA:

Ingresar los valores promedios por mes, estación o anual del lugar en estudio de:

temperatura (°C); humedad relativa del aire (10 – 100%); y, velocidad del viento (km/h).

#### Entrada PASTURA:

Ingresar los valores promedios por mes, estación o anual del forraje en estudio de: disponibilidad de materia seca (kg MS/ha), digestibilidad del forraje (40 – 80%), contenido de proteína cruda (1 - 90%), contenido de materia seca (1 – 100%), carga animal (U.A./ha). Para el presente estudio no se consideró ninguna estrategia de alimentación adicional como forraje por corte y acarreo y suplementación (como forrajes complementarios, concentrados y otros).

#### Entrada COSTO:

Ingresar los datos necesarios para la estimación de costos son los siguientes: Unidad monetaria, costo del pasto usado bajo pastoreo, contribución relativa de los costos de alimentación a los costos totales de producción en porcentaje (%) y definir la unidad actual. El símbolo genérico utilizado para la moneda es "\$". El costo del pasto usado bajo pastoreo debe ingresarse en \$/kg como alimento.

En la ventana SIMULACIONES, después de ingresar los datos realizar el proceso de simulación. La ventana de simulación permite al usuario escribir una descripción del escenario a simular. El modelo permite al usuario comparar hasta 9 escenarios. Una vez que se ha completado el noveno escenario, se deben guardar.

En la ventana, GESTIÓN DE DATOS, después de generar los escenarios, guardar una base de datos (salidas de tipo "resumen").

Anexo 25. Emisión de metano por toretes al pastoreo mediante la técnica de simulación Life-Sim en condiciones de selva alta durante ambos periodos.

| Periodo de mayor precipitación  |        |       |       |       |       |       |       |       |       |       |                  |      |           |
|---------------------------------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------------------|------|-----------|
| M. E.                           | Torete | Días  |       |       |       |       |       |       |       |       | Media/<br>torete | D.E. | CV<br>(%) |
|                                 |        | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |                  |      |           |
| Cr                              | 1      | 147.7 | 149.3 | 147.3 | 147.3 | 154.0 | 146.3 | 134.7 | 140.7 | 131.0 | 144.3            | 7.38 | 5.12      |
| Cr                              | 2      | 163.0 | 165.0 | 166.3 | 163.0 | 174.7 | 159.3 | 153.0 | 155.0 | 150.0 | 161.0            | 7.61 | 4.72      |
| Cr                              | 3      | 141.3 | 143.3 | 140.3 | 139.7 | 149.7 | 147.3 | 134.3 | 135.3 | 130.7 | 140.2            | 6.13 | 4.37      |
| Cr                              | 5      | 188.7 | 187.3 | 189.3 | 186.3 | 198.3 | 184.3 | 178.7 | 181.0 | 167.7 | 184.6            | 8.46 | 4.58      |
| Cr                              | 7      | 160.0 | 159.7 | 156.0 | 159.3 | 169.7 | 153.0 | 150.0 | 151.0 | 144.0 | 155.9            | 7.43 | 4.76      |
| Cr                              | 11     | 149.0 | 155.0 | 150.3 | 150.0 | 158.7 | 144.3 | 139.7 | 145.0 | 135.0 | 147.4            | 7.34 | 4.98      |
| Cr                              | 12     | 128.7 | 124.7 | 127.0 | 126.0 | 132.7 | 121.3 | 122.7 | 121.0 | 112.3 | 124.0            | 5.75 | 4.63      |
| Ti                              | 4      | 130.3 | 128.0 | 129.0 | 127.3 | 136.7 | 125.0 | 122.0 | 121.7 | 115.3 | 126.1            | 6.09 | 4.83      |
| Ti                              | 6      | 134.0 | 132.3 | 131.7 | 130.0 | 140.7 | 127.3 | 123.7 | 124.3 | 119.0 | 129.2            | 6.45 | 4.99      |
| Ti                              | 8      | 179.0 | 176.0 | 178.3 | 175.3 | 185.3 | 168.0 | 165.0 | 167.3 | 155.3 | 172.2            | 9.07 | 5.27      |
| Ti                              | 9      | 176.3 | 174.0 | 170.7 | 174.3 | 181.7 | 169.3 | 162.3 | 165.3 | 156.7 | 170.1            | 7.67 | 4.51      |
| Ti                              | 10     | 204.7 | 208.7 | 204.7 | 208.7 | 215.0 | 200.3 | 192.7 | 197.0 | 186.7 | 202.0            | 8.82 | 4.36      |
| Media/ día                      |        | 158.6 | 158.6 | 157.6 | 157.3 | 166.4 | 153.8 | 148.2 | 150.4 | 142.0 | 154.8            |      |           |
| sd ±                            |        | 24.5  | 25.3  | 24.8  | 25.6  | 25.6  | 24.0  | 23.0  | 24.0  | 22.4  | 23.3             |      |           |
| CV %                            |        | 15.4  | 15.9  | 15.8  | 16.3  | 15.4  | 15.6  | 15.5  | 16.0  | 15.8  | 15.0             |      |           |
| Periodo de menor precipitación. |        |       |       |       |       |       |       |       |       |       |                  |      |           |
| Marcador                        | Torete | Días  |       |       |       |       |       |       |       |       | Media/<br>torete | D.E. | CV<br>(%) |
|                                 |        | 1     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     |                  |      |           |
| Cr                              | 1      | 198.7 | 183.7 | 162.0 | 176.7 | 167.0 | 159.7 | 146.7 | 159.0 | 157.3 | 167.9            | 15.9 | 9.5       |
| Cr                              | 2      | 221.3 | 196.0 | 174.0 | 192.0 | 184.3 | 174.3 | 160.3 | 167.3 | 171.7 | 182.4            | 18.6 | 10.2      |
| Cr                              | 3      | 192.3 | 174.7 | 154.3 | 171.7 | 161.3 | 156.0 | 140.0 | 148.7 | 155.7 | 161.6            | 15.7 | 9.7       |
| Cr                              | 5      | 228.3 | 204.3 | 179.7 | 197.7 | 186.3 | 180.3 | 167.3 | 180.3 | 179.7 | 189.3            | 18.2 | 9.6       |
| Cr                              | 7      | 213.3 | 194.3 | 166.3 | 179.3 | 173.3 | 166.0 | 154.0 | 169.3 | 165.0 | 175.7            | 18.0 | 10.2      |
| Cr                              | 11     | 207.3 | 183.3 | 161.3 | 179.7 | 168.0 | 165.3 | 149.0 | 167.0 | 164.3 | 171.7            | 16.7 | 9.7       |
| Cr                              | 12     | 208.7 | 181.7 | 163.0 | 173.0 | 167.3 | 162.7 | 150.3 | 162.7 | 163.0 | 170.3            | 16.7 | 9.8       |
| Ti                              | 4      | 159.0 | 143.7 | 126.3 | 139.0 | 131.0 | 126.0 | 115.7 | 125.0 | 123.7 | 132.1            | 13.1 | 9.9       |
| Ti                              | 6      | 169.0 | 149.3 | 130.3 | 143.7 | 136.7 | 132.3 | 122.0 | 131.3 | 131.7 | 138.5            | 13.9 | 10.1      |
| Ti                              | 8      | 211.3 | 188.3 | 162.0 | 183.7 | 176.0 | 170.7 | 153.3 | 168.3 | 167.0 | 175.6            | 17.1 | 9.7       |
| Ti                              | 9      | 245.0 | 218.7 | 190.7 | 210.3 | 200.0 | 193.3 | 178.7 | 195.0 | 194.0 | 202.9            | 19.5 | 9.6       |
| Ti                              | 10     | 268.0 | 236.3 | 208.0 | 231.0 | 213.0 | 210.3 | 188.7 | 208.7 | 208.3 | 219.1            | 23.0 | 10.5      |
| Media/ día                      |        | 210.2 | 187.9 | 164.8 | 181.5 | 172.0 | 166.4 | 152.2 | 165.2 | 165.1 | 173.9            |      |           |
| sd ±                            |        | 29.8  | 25.9  | 22.7  | 25.4  | 23.3  | 23.1  | 20.8  | 23.6  | 23.3  | 24.1             |      |           |
| CV %                            |        | 14.2  | 13.8  | 13.8  | 14.0  | 13.5  | 13.9  | 13.7  | 14.3  | 14.1  | 13.9             |      |           |

(-) Datos perdidos. D.E.: desviación estándar; CV: coeficiente de variación

Anexo 26. Evaluación del supuesto de normalidad utilizando la prueba Shapiro-Wilks (modificado) para las variables composición botánica, composición química, digestibilidad *in vitro*, y variables relacionadas con el consumo emisión de metano *in vitro*, simulación Life-Sim y SF<sub>6</sub> de la pastura seleccionada durante los dos periodos de estudio

| Variabes   | n  | D.E.  | W*   | p(Unilateral D) |
|--|----|-------|------|-----------------|
| RDUO Pasto alemán (%)                                | 15 | 5.38  | 0.95 | 0.7204          |
| RDUO Pasto Natural (%)                               | 15 | 4.91  | 0.93 | 0.4682          |
| RDUO Hoja (%)  | 15 | 4.05  | 0.95 | 0.7544          |
| RDUO Tallo (%)                                       | 15 | 4.13  | 0.95 | 0.7016          |
| RDUO R H/T   | 15 | 0.7   | 0.91 | 0.2513          |
| RDUO %MS   | 15 | 1.85  | 0.91 | 0.2908          |
| RDUO Cz BS   | 15 | 6.2   | 0.94 | 0.5925          |
| RDUO MO BS   | 15 | 6.2   | 0.94 | 0.5925          |
| RDUO PC BS   | 15 | 4.64  | 0.88 | 0.1049          |
| RDUO FDN BS  | 15 | 11.5  | 0.91 | 0.2472          |
| RDUO FDA BS  | 15 | 10.05 | 0.91 | 0.2568          |
| RDUO EB B.S. Mj/kg                                   | 15 | 0.22  | 0.89 | 0.1482          |
| RDUO DIVMS Daisy                                     | 19 | 16.35 | 0.94 | 0.4365          |
| RDUO DIVMO Daisy                                     | 19 | 18.97 | 0.93 | 0.3295          |
| RDUO Net Gas Correc                                  | 8  | 1.8   | 0.86 | 0.1692          |
| RDUO P. I  | 28 | 66.41 | 0.93 | 0.1743          |
| RDUO P. F.   | 28 | 66.93 | 0.93 | 0.1518          |
| RDUO GDP   | 26 | 0.37  | 0.92 | 0.1229          |
| RDUO W <sup>0.75</sup>                               | 28 | 11.96 | 0.92 | 0.1409          |
| RDUO PHMO  | 28 | 0.42  | 0.91 | 0.0832          |
| RDUO PHMS  | 28 | 0.55  | 0.93 | 0.1744          |
| RDUO DMO   | 28 | 0.92  | 0.97 | 0.8198          |
| RDUO CMO   | 28 | 1.28  | 0.94 | 0.3051          |
| RDUO CMS   | 28 | 1.65  | 0.94 | 0.3798          |
| RDUO CMS (g/KGW <sup>0.75</sup> )                    | 24 | 11.96 | 0.92 | 0.1409          |
| RDUO CPC Kg/d  | 28 | 0.2   | 0.96 | 0.5968          |
| RDUO CFDN Kg/d                                       | 28 | 1.1   | 0.95 | 0.4992          |
| RDUO CFDA Kg/d                                       | 28 | 0.61  | 0.95 | 0.4971          |
| RDUO CEB Mj/d  | 28 | 1.52  | 0.94 | 0.3526          |
| RDUO CED Mj/d  | 28 | 12.5  | 0.9  | 0.1799          |
| RDUO CH <sub>4</sub>                                 | 24 | 36.0  | 0.95 | 0.5708          |
| RDUO g CH <sub>4</sub> /CMS (g/kgW <sup>0.75</sup> ) | 24 | 0.36  | 0.96 | 0.7897          |
| RDUO g/Kg MS consumida                               | 24 | 3.59  | 0.93 | 0.2534          |
| RDUO g/Kg MO consumida                               | 24 | 4.76  | 0.92 | 0.1588          |
| RDUO g/Kg FDN consumida                              | 24 | 5.41  | 0.93 | 0.283           |
| RDUO YM  | 24 | 1.23  | 0.93 | 0.2412          |
| Metano <i>In vitro</i> Hohenheim                     |    |       |      |                 |
| RDUO Net Gas Correc (ml/20..                         | 8  | 1.8   | 0.86 | 0.1692          |

Continua ...

|  |    |       |      |        |
|--|----|-------|------|--------|
| RDUO Average CH <sub>4</sub> (ml)                    | 8  | 0.29  | 0.87 | 0.2098 |
| RDUO Average CH <sub>4</sub> (mg)                    | 8  | 0.21  | 0.86 | 0.1747 |
| RDUO Average CH <sub>4</sub> (g)                     | 8  | 1.03  | 0.86 | 0.1809 |
| LifeSim  |    |       |      |        |
| RDUO CH <sub>4</sub>                                 | 24 | 22.51 | 0.96 | 0.7472 |
| SF <sub>6</sub>                                      |    |       |      |        |
| RDUO CH <sub>4</sub> (g/torete)                      | 24 | 33.58 | 0.95 | 0.4791 |
| RDUO g CH <sub>4</sub> /CMS (g/kgW <sup>0.75</sup> ) | 24 | 0.31  | 0.96 | 0.7268 |

RDUO: residuos; D.E.: desviación estándar; W\*: estimador Shapiro Wilks; p-valor

Anexo 27. Evaluación del supuesto de homocedasticidad mediante la Prueba F para igualdad de varianzas para las variables composición botánica, composición química, digestibilidad *in vitro*, variables relacionadas con el consumo, emisión de metano *in vitro*, simulación Life-Sim y SF<sub>6</sub> de la pastura seleccionada durante los dos periodos de estudio.

| Variable                     | Var (1) | Var (2) | F    | p      |
|------------------------------|---------|---------|------|--------|
| Pasto alemán                 | 22.99   | 38.21   | 0.60 | 0.5524 |
| Pasto natural                | 22.99   | 28.55   | 0.81 | 0.8074 |
| Hoja                         | 6.33    | 27.3    | 0.23 | 0.0948 |
| Tallo                        | 6.33    | 28.69   | 0.22 | 0.0848 |
| R H/T                        | 0.18    | 0.83    | 0.22 | 0.0861 |
| MS (%)                       | 4.56    | 2.94    | 1.55 | 0.576  |
| Cz BS                        | 71.66   | 15.57   | 4.60 | 0.0655 |
| MO BS                        | 71.66   | 15.57   | 4.60 | 0.0655 |
| PC BS                        | 18.15   | 27.5    | 0.66 | 0.6292 |
| FDN BS                       | 145.66  | 139.47  | 1.04 | 0.9413 |
| FDA BS                       | 67.67   | 143.89  | 0.47 | 0.3769 |
| DIVMS Daisy                  | 110.44  | 436.21  | 0.25 | 0.066  |
| DIVMO Daisy                  | 183.6   | 556.44  | 0.33 | 0.1332 |
| Net Gas Corrected Hohemheim  | 3.76    | 3.77    | 1.00 | 0.9997 |
| Peso inicial                 | 4513.1  | 4646.1  | 1.0  | 0.9590 |
| Peso final                   | 4460.9  | 4843.0  | 0.9  | 0.8845 |
| GDP                          | 0.1     | 0.2     | 0.3  | 0.0702 |
| W <sup>0.75</sup>            | 156.7   | 140.5   | 1.1  | 0.8468 |
| PHMO                         | 0.2     | 0.2     | 0.9  | 0.8362 |
| PHMS                         | 0.3     | 0.3     | 0.9  | 0.8336 |
| DMO                          | 1.4     | 0.4     | 3.2  | 0.0692 |
| CMO                          | 1.5     | 2.0     | 0.7  | 0.5883 |
| CMS                          | 2.5     | 3.2     | 0.8  | 0.6590 |
| CMS (kgMS/100 kg of PV)      | 0.3     | 0.2     | 1.4  | 0.5222 |
| CMS (g/KGW <sup>0.75</sup> ) | 299.5   | 329.9   | 0.9  | 0.8645 |
| CPC Kg/d                     | 0.0     | 0.1     | 0.5  | 0.1870 |
| CFDN Kg/d                    | 1.2     | 1.4     | 0.9  | 0.7811 |

Continua ...

|   |        |         |      |        |
|---|--------|---------|------|--------|
| CFDA Kg/d                                       | 0.4    | 0.4     | 0.9  | 0.7692 |
| CEB Mj/d  | 2.1    | 2.8     | 0.8  | 0.6042 |
| CED Mj/d  | 186.4  | 136.4   | 1.4  | 0.5818 |
| CH <sub>4</sub> g/d                             | 1295.3 | 1414.7  | 0.92 | 0.8864 |
| g CH <sub>4</sub> /CMS (g/kgW <sup>0.75</sup> ) | 0.1    | 0.2     | 0.7  | 0.6174 |
| g CH <sub>4</sub> /Kg MS consumida              | 7.7    | 19.2    | 0.4  | 0.1433 |
| g CH <sub>4</sub> /Kg MO consumida              | 13.7   | 33.7    | 0.4  | 0.1498 |
| g CH <sub>4</sub> /Kg FDN consumida             | 16.4   | 44.9    | 0.4  | 0.1089 |
| Y <sub>m</sub>                                  | 0.9    | 2.2     | 0.4  | 0.1633 |
| Metano <i>In vitro</i> Hohenheim                |        |         |      |        |
| Average CH <sub>4</sub> (ml)                    | 0.08   | 0.12    | 0.67 | 0.7476 |
| Average CH <sub>4</sub> (mg)                    | 0.04   | 0.06    | 0.69 | 0.7682 |
| Average CH <sub>4</sub> (g)                     | 1.01   | 1.45    | 0.69 | 0.7716 |
| SF <sub>6</sub>                                 |        |         |      |        |
| CH <sub>4</sub>                                 | 941.89 | 1415.26 | 0.67 | 0.5106 |
| g CH <sub>4</sub> /CMS (g/kgW <sup>0.75</sup> ) | 0.09   | 0.11    | 0.84 | 0.7801 |

Var (1): varianza periodo mayor precipitación pluvial; Var (2): varianza periodo menor precipitación pluvial; F: estimado F bilateral; p: valor de probabilidad.

Anexo 28. Prueba T student para muestras apareadas para las variables composición botánica, composición química, digestibilidad *in vitro*, y variables relacionadas con el consumo de la pastura seleccionada durante los dos periodos de estudio.

| Observación                     | N  | Media  | Media  | DE<br>(dif) | LI     | LS     | T     | Bilateral |
|---------------------------------|----|--------|--------|-------------|--------|--------|-------|-----------|
|                                 |    | (1)    | (2)    |             | 95%    |        |       |           |
| Biomasa antes                   | 10 | 3854.1 | 3261.9 | 1773.1      | -459.1 | 2077.7 | 1.44  | 0.1828    |
| Biomasa después                 | 10 | 2679.8 | 2167.4 | 1609.3      | -638.9 | 1663.6 | 1.01  | 0.3403    |
| Pasto alemán                    | 7  | 88.6   | 60.4   | 4.9         | 23.6   | 32.7   | 15.13 | <0.0001   |
| Pasto natural                   | 7  | 11.4   | 17.0   | 8.4         | -13.3  | 2.1    | -1.77 | 0.1264    |
| Hoja                            | 7  | 74.0   | 74.8   | 3.8         | -4.3   | 2.7    | -0.55 | 0.6007    |
| Tallo                           | 7  | 26.0   | 25.6   | 4.1         | -3.3   | 4.2    | 0.28  | 0.7902    |
| R H/T                           | 7  | 2.9    | 3.1    | 0.7         | -0.8   | 0.4    | -0.91 | 0.3966    |
| MS (%)                          | 7  | 253.4  | 276.0  | 31.7        | -51.9  | 6.7    | -1.89 | 0.1082    |
| Cz                              | 7  | 117.0  | 113.9  | 7.9         | -4.2   | 10.4   | 1.05  | 0.3321    |
| MO                              | 7  | 883.0  | 886.1  | 7.9         | -10.4  | 4.2    | -1.05 | 0.3321    |
| PC                              | 7  | 100.7  | 125.6  | 4.2         | -28.8  | -21.0  | -15.6 | <0.0001   |
| FDN                             | 7  | 685.0  | 699.7  | 20.3        | -33.5  | 4.0    | -1.92 | 0.1031    |
| FDA                             | 7  | 379.7  | 379.4  | 15.2        | -13.8  | 14.4   | 0.05  | 0.962     |
| DIVMS Daisy                     | 7  | 583.4  | 571.0  | 19.4        | -5.6   | 30.4   | 1.69  | 0.1422    |
| DIVMO Daisy                     | 7  | 643.9  | 648.8  | 22.4        | -25.6  | 15.8   | -0.58 | 0.5813    |
| CH <sub>4</sub> <i>in vitro</i> |    |        |        |             |        |        |       |           |
| PNGC (ml)                       | 4  | 34.2   | 33.9   | 0.1         | 0.1    | 0.4    | 5     | 0.0154    |
| CH <sub>4</sub> (ml)            | 4  | 6.2    | 6.2    | 0.2         | -0.3   | 0.4    | 0.52  | 0.6376    |

Continua ...

|                              |    |       |       |      |        |        |       |         |
|------------------------------|----|-------|-------|------|--------|--------|-------|---------|
| CH <sub>4</sub> mg)          | 4  | 2.2   | 2.2   | 0.1  | 0.0    | 0.1    | 1.73  | 0.1817  |
| CH <sub>4</sub> (g/kg MS)    | 4  | 22.2  | 21.9  | 0.7  | -0.9   | 1.3    | 0.65  | 0.5607  |
| LifeSim                      |    |       |       |      |        |        |       |         |
| CH <sub>4</sub> g/torete     | 12 | 154.8 | 173.9 | 12.5 | -27.1  | -11.3  | -5.34 | 0.0002  |
| SF <sub>6</sub>              |    |       |       |      |        |        |       |         |
| Peso inicial                 | 14 | 279.9 | 352.4 | 30.3 | -90.0  | -55.0  | -8.96 | <0.0001 |
| Peso final                   | 14 | 285.1 | 359.0 | 31.5 | -92.1  | -55.7  | -8.77 | <0.0001 |
| GDP (Kg/d)                   | 14 | 0.7   | 0.9   | 0.2  | -0.3   | -0.1   | -4.62 | 0.0005  |
| PHMO (kg/d)                  | 14 | 2.3   | 2.4   | 0.4  | -0.3   | 0.1    | -0.93 | 0.3672  |
| PHMS (kg/d)                  | 14 | 3.0   | 3.1   | 0.5  | -0.4   | 0.2    | -0.74 | 0.4753  |
| DMO (%)                      | 14 | 66.0  | 68.0  | 1.6  | -2.9   | -1.1   | -4.65 | 0.0005  |
| PM <sup>0.75</sup>           | 14 | 68.1  | 81.1  | 5.3  | -16.1  | -9.9   | -9.18 | <0.0001 |
| CMO (Kg/d)                   | 14 | 6.7   | 7.4   | 1.1  | -1.3   | -0.1   | -2.31 | 0.0379  |
| CMS (kg/d)                   | 14 | 8.9   | 9.7   | 1.4  | -1.7   | 0.0    | -2.15 | 0.0508  |
| CMS (100kgPV)                | 14 | 3.3   | 2.8   | 0.6  | 0.1    | 0.8    | 2.94  | 0.0115  |
| CPC Kg/d                     | 14 | 0.9   | 1.2   | 0.2  | -0.5   | -0.3   | -7.13 | <0.0001 |
| CFDN Kg/d                    | 14 | 6.1   | 6.8   | 1.0  | -1.3   | -0.1   | -2.65 | 0.0198  |
| CFDA Kg/d                    | 14 | 3.4   | 3.7   | 0.6  | -0.7   | 0.0    | -2.26 | 0.0417  |
| CEB Mj/d                     | 14 | 8.1   | 9.0   | 1.3  | -1.7   | -0.2   | -2.68 | 0.0189  |
| CMS (kgPV <sup>0.75</sup> )  | 14 | 131.7 | 120.3 | 21.6 | -1.2   | 23.8   | 1.96  | 0.0716  |
| CH <sub>4</sub> (g/animal/d) | 12 | 176.5 | 296.7 | 27.3 | -137.6 | -102.9 | -15.2 | <0.0001 |
| g CH <sub>4</sub> /CMS       |    |       |       |      |        |        |       |         |
| (g/kgW <sup>0.75</sup> )     | 12 | 1.4   | 2.5   | 0.3  | -1.3   | -0.9   | -12.2 | <0.0001 |
| g/Kg MSC                     | 12 | 20.3  | 31.1  | 4.6  | -13.7  | -7.9   | -8.2  | <0.0001 |
| g/Kg MOC                     | 12 | 27.0  | 40.9  | 6.1  | -17.8  | -10.1  | -7.95 | <0.0001 |
| g/Kg FDNC                    | 12 | 29.7  | 44.5  | 6.6  | -19.0  | -10.7  | -7.83 | <0.0001 |
| Ym (%)                       | 12 | 7.1   | 10.6  | 1.6  | -4.5   | -2.5   | -7.81 | <0.0001 |

Anexo 29. Prueba de Wilcoxon (muestras apareadas) que no cumplieron con los supuestos de normalidad y homocedasticidad los dos periodos de estudio.

|                           | N  | Suma (R+) | E (R+) | Var (R+) | media (dif) | DE (dif) | Z    | p (2 colas) |
|---------------------------|----|-----------|--------|----------|-------------|----------|------|-------------|
| Verde (%)                 | 7  | 14        | 14     | 35.0     | 0.3         | 4.2      | 0.0  | >0.9999     |
| Senescencia (%)           | 7  | 14        | 14     | 35.0     | -0.3        | 4.2      | 0.0  | >0.9999     |
| EB (Kj/kg)                | 7  | 2         | 14     | 34.5     | -0.4        | 0.4      | -2.0 | 0.0594      |
| ED(Kj/d)                  | 7  | 0         | 14     | 34.8     | -0.5        | 0.2      | -2.4 | 0.0284      |
| SF <sub>6</sub>           |    |           |        |          |             |          |      |             |
| g CH <sub>4</sub> /Kg GDP | 12 | 0         | 39     | 162.5    | -128.0      | 102.1    | -3.1 | <0.0001     |