

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**“EFECTO DEL CONCENTRADO FIBROSO SOBRE LAS EMISIONES DE
METANO ENTERICO (CH₄) EN VACAS LECHERAS”**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. GYORGY VILCA OBLITAS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO-PERÚ

2015

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO PUNO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
"Efecto del concentrado fibroso sobre las emisiones de metano entérico
(CH₄) en vacas lecheras"


TESIS

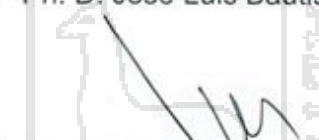
PRESENTADO PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA


APROBADA POR:


PRESIDENTE DE JURADO : Dr. Roberto Gallegos Acero


PRIMER MIEMBRO : Ph. D. José Luis Bautista Pampa


SEGUNDO MIEMBRO : Mg. Sc. (c) Simón Foraquita Choque


DIRECTOR : Ph. D. Bernardo Roque Huanca


ASESOR : Dr. Teodosio Huanca Mamani


ASESOR : Mg. Sc. Regina Sumari Machaca

ÁREA: Nutrición animal

TEMA: Alimentos, forrajes no convencionales

DEDICATORIA

*A Dios, por brindarme vitalidad y sabiduría para lograr mis objetivos. A mis amados padres, **Justino Elías Vilca Hanco y Anselma Silvia Oblitas de Vilca**, por darme la vida, valores, principios, por la motivación constante que supieron encaminarme en mi desarrollo personal y profesional.*

*A mis queridos hermanos **Isidoro, Yolanda, Wilfredo, Clotilde, Harry, Jhon y Sobrinas Cinthia, Ruth, Charo, Michelle, kristell y Joaquin**. De quienes aprendí aciertos y fueron el apoyo incondicional en el duro trajín de la vida.*

*A mis apreciados amigos **Saúl, Sminger, Nimer, Elvis, rolando, Fredy, Alan** y en especial a **Marisol Nieves** con quienes compartí la vida estudiantil y confiaron en mi capacidad y responsabilidad de asumir retos para concretarlos según lo planeado.*

Gyorgy Vilca Oblitas.

AGRADECIMIENTO

A nuestra alma mater, la Universidad Nacional del Altiplano y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por haberme formado profesional, de la cual orgullosamente llevaré en alto su nombre.

Al Laboratorio de Nutrición Animal de la facultad de medicina veterinaria y zootecnia - UNA –Puno, por el apoyo en uso del equipo, reactivos, para el presente trabajo de investigación.

Reconocimiento singular al Ph. D. Bernardo Roque Huanca, por facilitarme las herramientas, sabiduría, soporte, su paciencia, sugerencia, quien ha corregido minuciosamente el presente trabajo y me ha dado la posibilidad de mejorarlo.

A la Estación Experimental Agraria Illpa del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) –Puno por el apoyo logístico, con materiales, especímenes y asesoramiento.

A los docentes miembros del jurado: Dr. Roberto Gallegos Acero, Ph. D. José Luis Bautista Pampa, Dr. Simón Foraquita Choque, agradecerles por su paciencia y sugerencias en el desarrollo de la tesis.

El presente trabajo de investigación es un esfuerzo en el cual directa o indirectamente participaron personajes contribuyendo en diferentes aspectos, con el único fin de concretarlo en forma satisfactoria; a todos ellos quedo infinitamente agradecido.

Gyorgy Vilca Oblitas

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| Resumen | |
| I. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA..... | 2 |
| 2.1 Suplementación con concentrado | 2 |
| 2.2 Seguridad alimentaria y costo ambiental..... | 2 |
| 2.3 Microbiota ruminal..... | 4 |
| 2.4.1. Arqueas del rumen..... | 5 |
| 2.4. Metano entérico..... | 5 |
| 2.5. Mitigación de metano entérico..... | 8 |
| 2.7. Estimación de las emisiones de CH ₄ entérico..... | 12 |
| 2.8. Transformada de Fourier (FTIR) espectroscopia de absorción infrarroja | 13 |
| 2.9. Antecedentes de uso del equipo Gasmet DX – 4030..... | 13 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 14 |
| 3.1 Ámbito experimental..... | 14 |
| 3.2 Instalaciones..... | 14 |
| 3.3 Animales..... | 15 |
| 3.4 Alimentos y alimentación..... | 16 |
| 3.5 Metodología..... | 18 |
| 3.5.1 Estimación de las emisiones de CH ₄ entérico..... | 18 |
| 3.5.2 Medición n de las emisiones entérico (CH ₄)..... | 19 |
| 3.6 Análisis estadístico..... | 22 |
| IV. RESULTADO Y DISCUSIONES..... | 23 |
| 4.1 Medición de las emisiones de metano entérico (CH ₄) en vacas lecheras | 23 |
| V. CONCLUSIONES..... | 30 |
| VI. RECOMENDACIONES..... | 31 |
| VII. BIBLIOGRAFÍA..... | 32 |
| ANEXO 1. TABLAS..... | 43 |

RESUMEN

El trabajo se realizó en la Estación Experimental Agraria ILLPA del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) de Puno, entre los meses de octubre a diciembre del año 2014. Los objetivos fueron estimar y medir las emisiones de metano entérico (CH_4) en vacas lecheras. La estimación se realizó mediante modelos de predicción a partir del consumo de materia seca, el contenido de fibra detergente neutro y extracto etéreo en la dieta. La determinación se realizó a través de la técnica de espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR). La muestra estuvo conformada por un lote de 24 vacas lecheras, distribuidas en dos grupos de 12 vacas por grupo. Los datos fueron analizados mediante la prueba de comparación de medias con t Student. Las vacas iniciaron con similares características en peso vivo de 500.0 ± 58.89 vs. 499.83 ± 45.81 , y producción de leche 11.08 ± 2.89 vs. 11.33 ± 3.39 y volumen corporal en momento de medición 0.44 ± 0.045 vs. $0.42 \pm 0.038 \text{ m}^3$. Las mediciones se realizaron en un cámara de respiración de 33.81 m^3 donde las vacas pernoctaron durante 10 minutos encerrados, midiéndose los últimos tres minutos; para medición de metano se utilizó equipo de gaset DX 4030, Las vacas con suplementación con 6kg de concentrado fibroso producen menores ($P < 0.00005$) cantidades (311.48 ± 11.22 vs. $340.08 \pm 16.26 \text{ g/día}$) y volúmenes (725.12 ± 26.13 vs. $791.70 \pm 37.85 \text{ L/día}$), intensidades (50.66 ± 5.98 vs. $69.49 \pm 7.03 \text{ L/Mcal de RE}$, o 1.36 ± 0.16 vs. $1.86 \pm 0.19 \text{ mol /Mcal de RE}$, o 15.61 ± 1.01 vs. $19.62 \pm 1.32 \text{ g/Kg IMS}$) y equivalentes CO_2 (485.40 ± 17.49 vs. $529.97 \pm 25.34 \text{ CO}_2\text{e Mol/d}$, o 390.34 ± 25.22 vs. $490.46 \pm 33.08 \text{ CO}_2 \text{ g/Kg IMS}$) de CH_4 entérico. Y por estimación de metano es mayor para vacas suplementadas ($P < 0.00001$) teniendo 368.67 ± 22.06 vs. $325.25 \pm 15.55 \text{ g CH}_4\text{/día/vaca}$, 742.38 ± 26.69 vs. $809.48 \pm 38.69 \text{ L CH}_4\text{/d/vaca}$. A partir de los resultados se concluye que los concentrados fibrosos disminuyen las emisiones de CH_4 entérico en vacas.

I. INTRODUCCIÓN

La baja productividad y la alta contaminación son los problemas básicos que afronta la crianza del ganado bovino en altura, debido a las características de su dieta con alto contenido de fibra y bajo contenido de proteína, que se manifiesta con altas emisiones de metano entérico (CH_4) con efectos sobre el calentamiento global (IPCC, 2007). La magnitud de las emisiones depende de la cantidad y calidad del alimento consumido por los animales (Johnson y Johnson, 1995). El procesamiento mecánico de los forrajes en concentrados fibrosos es una estrategia dietaria que podría mejorar la productividad animal y disminuir la contaminación ambiental. Las vacas lecheras suplementadas con 4Kg/d de concentrado fibroso lograron mayor ($P < 0.01$) producción de leche (10.26 vs. 8.42 Kg/d), mayor ganancia de peso vivo (0.29 vs. 0.11 Kg/d), mayor condición corporal (2.98 vs. 2.70) y menores emisiones de metano entérico (1.96 vs. 2.39 mol/Kg de leche), con relación a las vacas alimentadas tradicionalmente con forrajes enteros (Roque *et al.*, 2012). Las emisiones de metano a la atmósfera son un problema medioambiental de primer orden ya que este gas se encuentra estrechamente ligado al efecto invernadero y al calentamiento global (Jensen y Kirs, 2008). El proyecto tuvo como objetivo general, evaluar el efecto del concentrado fibroso en la alimentación sobre las emisiones de metano entérico (CH_4) en vacas lecheras en condiciones de altura; y como objetivos específicos, estimar y medir las emisiones de metano entérico (CH_4) en vacas lecheras.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Suplementación con concentrado

El objetivo principal de la suplementación de vacas lecheras al pastoreo, es aumentar el consumo total de materia seca y el consumo de energía para aumentar los niveles de producción, aumentar la carga y mejorar el uso de la pradera (Peyraud *et al.*, 1997; Pulido, 1997). El consumo de forraje es dependiente de la calidad y de la disponibilidad de forraje por animal (Bargo *et al.*, 2002; Bargo *et al.*, 2003). La inclusión de concentrados energéticos en dietas basadas en forrajes pueden provocar caídas en el pH ruminal, disminuir la actividad de la flora celulítica en rumen y disminuir la tasa de degradación de la fibra, lo cual explica la disminución en el consumo de forraje (Bargo *et al.*, 2003).

2.2 Seguridad alimentaria y costo ambiental

La ganadería es una de las fuerzas que impulsa la seguridad alimentaria y el desarrollo sostenible de la población mundial, mediante el uso y transformación de alimentos vegetales fibrosos en leche, carne y despojos útiles para la alimentación del ser humano (FAO, 2011). Los cálculos indican que para el año 2050, el consumo mundial de carne aumentará de 229 a 465 millones de toneladas y el de leche de 580 a 1.043 millones de toneladas (FAO, 2012). lo cual significa que la seguridad alimentaria y nutricional de la población mundial tendrá un costo ambiental mucho más alto dado por las emisiones de gases de efecto invernadero, tales como metano (CH₄) y óxido nitroso (N₂O), los cuales son responsables del calentamiento global y el cambio climático (IPCC, 2007). El óxido nitroso contribuye además en la depleción del ozono en la estratósfera (Ravishankara *et al.*, 2009).

Las fuentes de metano pueden ser naturales o antropogénicas. Las fuentes antropogénicas se agrupan en tres sectores: agricultura, energía y estiércol. El sector agricultura contribuye con las mayores emisiones de metano, seguido por energía y estiércol (Yusuf *et al.*, 2012). Los estimados muestran que durante 1990-2010, las emisiones biogénicas de CH₄ incrementaron de 0.159 a 0.502 petagramos (Pg) de equivalentes a dióxido de carbono (CO₂) por año. Para finales del siglo, estas emisiones incrementarán de 137 a 151%, con relación a los niveles detectados durante 2000-2010, por lo que es necesario investigar las estrategias de mitigación de las emisiones de los gases de efecto invernadero distintos al CO₂ (Tian *et al.*, 2012).

El metano (CH₄) es un poderoso gas de efecto invernadero que tiene la propiedad de absorber los rayos infrarrojos y aumentar las temperaturas próximas a la superficie de la tierra, con impacto sobre el calentamiento global y el cambio climático (Montzka *et al.*, 2011). La fuerza radiativa del metano es de 25 veces más poderosa que la de CO₂ en un horizonte de 100 años y constituye el 18% de la fuerza radiativa global en la atmósfera (sin contar el vapor de agua), y es posible que incremente su papel en el calentamiento global. Su concentración atmosférica está en constante incremento, con un aumento de 158% en los últimos 120 años, habiendo alcanzado a la alarmante cifra de 1830 ppb (NOAA, 2013). Con una vida media en la atmósfera de 12 años, siendo además el segundo gas de efecto invernadero en volumen por detrás del CO₂ (Wright y Klieve, 2011). Si las emisiones de metano continúan aumentando al mismo ritmo que lo están haciendo los sistemas de producción dependientes de los rumiantes, se prevé un incremento del 60% en las emisiones de este gas para el año 2030 (FAO, 2003).

2.3 Microbiota ruminal

La colonización del rumen del animal neonato por los microorganismos se inicia en el momento del nacimiento, cuando el animal pasa a través del canal del parto. La colonización continúa tras el nacimiento por el contacto directo del animal joven con los adultos o los pastos, comederos, abrevaderos, etc. contaminados con saliva y heces de los adultos (Dehority, 2003). La composición y evolución de la microbiota ruminal de un animal están determinadas por factores diversos tales como la edad, localización geográfica, interacción hospedador-microorganismos, dieta, frecuencia con que el animal se alimenta, etc. (Dehority y Orpin, 1997).

La mayor parte de los microorganismos que componen la microbiota ruminal son bacterias, esencialmente anaerobias estrictas pero también anaerobias facultativas y aerobias (Hungate, 1966). Algunas toleran bajas concentraciones de oxígeno; sin embargo, el oxígeno que entra a través del alimento, del agua o de las paredes del rumen es rápidamente metabolizado, utilizándose como donador de electrones en la fermentación (Van Soest, 1982). Otros componentes de la microbiota ruminal son protozoos ciliados y flagelados, arqueas, hongos y virus, el número de especies microbianas ruminales son muy heterogéneos (Kim *et al.*, 2011). Se estima que en el rumen hay más de 1.000 especies distintas de bacterias, protozoos y hongos (Deng *et al.*, 2008). Que filogenéticamente pertenecen a los 3 dominios de la vida esto es Bacteria (Woese *et al.*, 1990). Archaea y Eucarya. Además, la diversidad y proporciones de la microbiota ruminal pueden verse afectadas por factores tales como el animal y la especie a la que pertenece (Zhou *et al.*, 2010); diferencias geográficas (Wright *et al.*, 2007);

la fracción o compartimento ruminal considerados, variaciones circadianas (Weimer *et al.*, 1999) o la dieta suministrada al animal (Sun *et al.*, 2010).

2.4.1. Arqueas del rumen

los microorganismos pertenecientes al dominio Archaeobacteria (arqueas), la gran mayoría pertenecen al phylum Euryarchaeota, constituido por las clases *Methanobacteria*, *Methanomicrobia*, *Thermoplasmata* y *Methanopyri* (70,3, 16,4, 7,4 y 0,03%, respectivamente), Dentro de la clase *Methanobacteria*, familia *Methanobacteriaceae* predominan 3 géneros: *Methanobrevibacter*, *Methanomicrobium* y *Methanosphaera* (50, 15 y 13% del total de archaeas, respectivamente), debido a su crecimiento relativamente rápido y su competitividad en la utilización del H₂ y CO₂ (Kim *et al.*, 2011). Estas son las únicas arqueas conocidas del rumen y son responsables de la producción de metano (Tajima *et al.*, 2001). Archaeas pertenecientes a los órdenes *Methanobacteriales* y *Methanomicrobiales* se han encontrado asociadas con protozoos de los géneros *Entodinium*, *Polyplastron*, *Epidinium*, y *Ophryoscolex* (Sharp *et al.*, 1998). También se han observado interacciones de diversas especies de metanogénicas con hongos anaeróbicos, como *Neocallimastix frontalis* (Joblin *et al.*, 2002).

2.4. Metano entérico

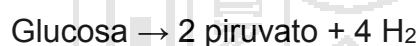
El metano entérico (por fermentación del tubo digestivo) es el gas digestivo más abundante que eliminan los animales rumiantes, como producto del trabajo bioquímico de un grupo de microorganismos del dominio Archaea que viven en el rumen, con predominio del género *Methanobrevibacter*, un grupo anaerobio estricto, capaz de crecer utilizando H₂ como fuente de energía y electrones que derivan del H₂ para reducir CO₂ a CH₄ (Janssen y Kirs, 2008). En el rumen, la

formación de metano es la principal forma de eliminación de hidrógeno (Moss *et al.*, 2000). La metanogénesis (biometanación) es el paso final de la descomposición de la biomasa. Los Archaea son un grupo filogenético distinto a los eucariotas y bacterias, a pesar de vivir en estrecha asociación con bacterias anaeróbicas (Hook *et al.*, 2010; Min *et al.*, 2014).

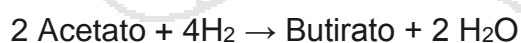
Las archaeas metanógenas no utilizan oxígeno para respirar (el oxígeno inhibe su crecimiento), carbono usa como aceptor final de electrones. El carbono puede derivar de un pequeño número de compuestos orgánicos, todos con bajo peso molecular. En términos fisiológicos, hay tres rutas de metanogénesis: (a) a partir de la reducción de dióxido de carbono (CO₂) con hidrógeno (H₂) (ruta hidrogenotrófica), (b) a partir de compuestos metilados tales como el metanol y aminas metiladas (ruta metilotrófica), y (c) a partir de la escisión del acetato (ruta acetoclástica) (Thauer *et al.*, 2008).

Moss *et al.* (2000), resumen de la siguiente manera la estequiometría de las principales rutas de fermentación:

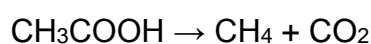
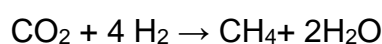
Reacciones productoras de H₂:



Reacciones que utilizan de H₂:



Las dos rutas más conocidas involucran al uso de dióxido de carbono y ácido acético (Hook *et al.*, 2010):



Sin embargo, la metanogénesis puede utilizar también carbono de otros compuestos orgánicos pequeños, tales como el ácido fórmico (formato), metanol, metilaminas, dimetil sulfuro y metanotiol, dependiendo del pH y la temperatura. Los metanógenos son beneficiarios directos del hidrógeno (H_2) que genera la fermentación de los alimentos por los otros microbios del rumen. Su metabolismo les permite obtener energía por reducción de dióxido de carbono (CO_2) con los electrones que derivan de la oxidación de H_2 , (o formato) produciendo CH_4 (Janssen y Kirs, 2008). Por consiguiente, la metanogénesis disminuye la cantidad de H_2 en el rumen y constituye la principal ruta de remoción de H_2 en el rumen. La información disponible indica que se puede minimizar la metanogénesis disminuyendo la producción de H_2 (disminuyendo el número de productores de H_2 tales como los protozoarios y algunos microorganismos fibrolíticos), inhibiendo la formación de CH_4 y/o re direccionando el H_2 hacia la producción de propionato (incrementando el número y la actividad de los no metanógenos tales como los utilizadores de H_2 (Morgavi *et al.*, 2010).

La cantidad de metano emitido está estrechamente ligada a la cantidad de alimento ingerido y digerido. La digestión ruminal produce ácidos grasos volátiles (AGV), CO_2 , H_2 , amoníaco y calor. Los metanógenos reducen CO_2 a CH_4 , usando H_2 como fuente de energía, como último paso de la fermentación ruminal. La formación de CH_4 actúa como el más importante sumidero de electrones que drena el H_2 producido por los microorganismos ruminales (Mc Allister y Newbold, 2008). Aproximadamente el 90% del metano emitido por los rumiantes se produce en el rumen y se exhala por la boca y la nariz (Wright *et al.*, 2004).

La emisión de metano tiene implicancias tanto nutricionales (pérdida de energía dietaría) como ambientales (gas de efecto invernadero), donde el metano que

deriva de la digestión de los pastos templados equivale a 6-7% de la energía bruta del alimento consumido, equivalente a una producción anual de CH₄ de 70-90 Kg de una vaca lactante (Pinares *et al.*, 2009).

La metanogénesis se puede ver afectada por numerosos factores como el pH, la concentración de AGVs en el rumen, el tipo de dieta, la forma de alimentación del animal, la especie animal o el estrés ambiental (Johnson y Johnson, 1995). El pH ruminal es uno de los principales factores que puede afectar la conformación de la población microbiana y los niveles de ácidos grasos producidos en el rumen. El pH ruminal al cual ciertas funciones son optimizadas puede variar. En el rumen hay dos grupos grandes grupos de bacterias que actúan a varios pH. El de digestoras de fibra, las cuales son más activas a pH de 6,2 a 6,8. Las bacterias celulolíticas y metanogénicas pueden verse reducidas cuando el pH comienza a caer por debajo de 6. Por su parte, el grupo de los digestores de almidón prefieren un ambiente más ácido a pH de 5,2 a 6 (Ishler *et al.*, 1994).

2.5. Mitigación de metano entérico

Los estudios sobre mitigación de las emisiones de metano entérico en el ganado rumiante han mostrado una variedad de alternativas posibles de realizar. Estas estrategias incluyen la adición de ionóforos, grasas, uso de forrajes de alta calidad y granos. Estos cambios nutricionales reducen las emisiones de CH₄ por manipulación de la fermentación ruminal, inhibiendo directamente los metanógenos y protozoarios, o desviando los iones de hidrógeno lejos de los metanógenos. La adición de probióticos, acetógenos, bacteriocinas, virus de archaeas, ácidos orgánicos, extractos de plantas (aceites esenciales) a la dieta, así como la inmunización y selección genética de las vacas (Patra, 2012).

Los últimos reportes indican que el incremento de la digestibilidad de los forrajes y el consumo de forrajes digestibles es una de las mayores prácticas de mitigación recomendadas. Las leguminosas pueden también disminuir las emisiones de CH_4 comparado con las gramíneas debido a sus menores concentraciones de fibra. La inclusión de alimentos concentrados en la dieta de rumiantes disminuye la intensidad de las emisiones de CH_4 (Hristov *et al.*, 2013). Un estudio comparó el efecto de la alimentación de vacas lecheras con cebadilla (100) y asociación cebadilla + alfalfa (22:78). Las vacas alimentadas con asociación forrajera consumieron mayor cantidad de materia seca que las alimentadas con cebadilla sola (11.4 vs. 9.7 Kg MS/d), pero eliminaron menor cantidad de metano (373.8 vs. 411.0 L CH_4 /d) y menor pérdida de energía como CH_4 (7.1 vs. 9.5% de la energía bruta consumida), respectivamente (McCaughey *et al.*, 1999). Otro estudio confirmó lo mismo. Las vacas alimentadas con dietas de leguminosa eliminaron 124 g CH_4 /d frente a 170 g CH_4 /d de las alimentadas con dietas de gramínea + leguminosa, evidenciando el efecto de los forrajes de leguminosas en la mitigación de las emisiones de metano (Vlaming *et al.*, 2008). Los estudios de digestión *in vitro* han mostrado que los pastizales de trébol blanco tienen menor emisión de metano entérico (CH_4) que los pastizales de gramíneas perennes, debido a las diferencias en su composición química y la dinámica de la fermentación ruminal (Purcell *et al.*, 2012).

Existe interés para reducir las emisiones de metano entérico (CH_4) de los rumiantes por medios dietarios a fin de mejorar la captura de la energía dietaria y reducir los efectos ambientales (Fonty *et al.*, 2007); sin embargo, este esfuerzo se ve limitada por la complejidad de la comunidad microbial en el rumen del animal adulto (Abecia *et al.*, 2013). El sistema de producción así como el grupo

racial de los animales, juegan un papel importante en las emisiones de metano producto de la fermentación ruminal (Pedreira *et al.*, 2009).

La selección genética de animales que consumen menos alimento o producen menos metano por unidad de alimento es otra estrategia de gestión que se puede emplear para reducir las emisiones de metano entérico (Boadi y Wittenberg, 2002). Quienes estiman que la variación de animal-animal representa del 70% al 85% de la variación en la producción de metano diariamente. Dos aspectos que están siendo activamente investigados como medio para identificar los animales genéticamente superiores son la eficiencia alimenticia neta y el tiempo medio de retención de la digesta en el rumen (Hegarty, 2002).

Otro factor que afecta la producción de metano es la relación de ácidos grasos volátiles (AGV) producidos, la cual regula la producción de hidrógeno y la subsecuente producción de metano. Si la relación acética: propiónico llega a ser de 0.5 la pérdida energética puede ser de 0%. Pero si todos los glúcidos fuesen fermentados a ácido acético y no se produjera propiónico las pérdidas energéticas podrían llegar a ser del 33%. La relación acético: propiónico puede variar entre 0.9 a 4, por lo tanto las pérdidas por metano varían ampliamente (Johnson y Johnson, 1995).

Metodologías para medir las emisiones de metano en rumiantes

Para el desarrollo de un inventario preciso, es importante que exista confianza en la precisión de la tecnología utilizada para medición de CH₄. Las emisiones de metano provenientes del ganado han sido medidas como parte de los estudios sobre fermentación ruminal, balance energético, evaluación de aditivos y más recientemente, para caracterizar y reducir la contribución de rumiantes a la carga global de CH₄. Las emisiones de CH₄ por parte del ganado se han

medido usando técnicas de calorimetría de la respiración tales como las cámaras para el cuerpo entero, cajas de cabeza y cámaras y máscaras ventiladas (Johnson y Johnson, 1995).

A partir de los datos obtenidos mediante estas técnicas se han derivado las ecuaciones predictivas utilizadas para generar modelos matemáticos usados para los inventarios nacionales y mundiales (Benchaar *et al.*, 1998; Mills *et al.*, 2001).

Para las mediciones como tal de metano se han usado técnicas y/o equipos tales como: *a)* la cromatografía de gases; *b)* los analizadores de gases infrarrojos con detección fotoacústica; *c)* la espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FTIR); *d)* la espectroscopia de absorción láser con diodos sintonizables y, *e)* los semiconductores sensores de chip. Por su parte, para la medición de las emisiones de metano por parte de los rumiantes existen varias opciones o metodologías como: *a)* la calorimetría de la respiración; *b)* el uso de gases trazadores calibrados como el hexafluoruro de azufre (SF₆); *c)* técnicas meteorológicas tales como la técnica del túnel, las técnicas de arriba a abajo, las técnicas que muestrean en las fronteras límites de la capa atmosférica; *d)* las ecuaciones predictivas y; *e)* las técnicas *in vitro* entre las cuales se destaca la técnica de simulación ruminal –RUSITEC– y la técnica *in vitro* de producción de gases (Bhatta *et al.*, 2007).

La medición de las emisiones de metano *in vivo* incluye el uso de animales en pastoreo lo que es bastante difícil y extremadamente costoso, ya que requiere el uso de equipo y materiales altamente especializados (Johnson *et al.*, 2007). Los método *in vitro* no solo tienen la ventaja de ser más económicos y requerir menos

tiempo, si no que le permiten también controlar con mayor precisión las condiciones experimentales (Getachew *et al.*, 1998).

Las emisiones de metano entérico se determinó mediante las mediciones *in situ* de las concentraciones de metano del aire espirado por los animales experimentales, con un analizador de gases de metano (Gasmeter DX-4030), diseñado para mediciones *in situ* de diferentes compuestos gaseosos (tanto orgánicos e inorgánicos) a bajas concentraciones en el aire ambiente. Los resultados del análisis de hasta 25 compuestos pre-calibrado se visualizan en la pantalla de un PDA (Personal Digital Assistant). La comunicación entre el módulo analizador y el PDA es inalámbrico (con el protocolo Bluetooth). En la configuración estándar, concentraciones de 15 gases de interés se pueden monitorizar simultáneamente. Como una opción, diez gases adicionales se pueden agregar al análisis (Gasmeter^{MR}, 2012).

2.7. Estimación de las emisiones de CH₄ entérico

Las emisiones de CH₄ entérico se estimaron a través del modelo de predicción sugerido por Moraes *et al.* (2014), tanto para vacas lecheras como para bovinos de engorde, debido a la disponibilidad de los datos de entrada exigidos por el modelo, tales como la ingestión de materia seca (IMS) y el contenido de fibra detergente neutro (FDN) y extracto etéreo (EE) de la dieta consumida por los animales.

$$\text{CH}_4 \text{ (MJ/d)} = 0.796 \times \text{IMS (Kg/d)} + 0.157 \times \text{FDN (\%MS)} - 0.219 \times \text{EE (\%MS)} - 1.285$$

Las emisiones de CH₄ entérico se expresaron en cantidades absolutas por día (litros, moles y gramos por día), como proporción del consumo (gramos, litros o % del consumo de materia seca o energía consumida) y en términos de productividad (gramos o moles por unidad de producto obtenido); es decir, la

denominada intensidad de las emisiones de metano entérico (Lovett *et al.*, 2003; Jordan *et al.*, 2006; Leslie *et al.*, 2008).

2.8. Transformada de Fourier (FTIR) espectroscopia de absorción infrarroja

El principio consiste en luz infrarroja se divide en dos trayectorias por dos rayos de un interferómetro. Cuando los rayos se combinan en un detector de infrarrojos, interferencia constructiva y destructiva produce una señal modulada que es una función de la diferencia de camino óptico entre los dos rayos. Esta llamada interferograma se convierte en un espectro de Fourier por un complejo de transformar. En la espectroscopia de FTIR de la absorción n de infrarrojos única de diferentes moléculas se utilizan para cuantificar su concentración. Una serie de gases de interés en la investigación del cambio climático podría ser determinado de forma única y al mismo tiempo (Bhatta *et al.*, 2007)

2.9. Antecedentes de uso del equipo Gasmeter DX – 4030

El efecto del nitrato y azufre adicional en la dieta sobre la producción de metano en el ganado.

El método utilizado para la medición de la producción de metano fue la técnica CO_2 , que se basa con CO_2 como gas trazador. La cantidad de metano producido se puede calcular. La concentración de CO_2 , CH_4 y relación de CH_4 entre CO_2 se midió cada dos horas durante un período de 24 horas en el sexto día, de cada período de recolección de datos. Esto se hizo con el equipo portátil Gasmeter DX4030 basado en mediciones infrarrojas. Los animales se mantuvieron en la cámara durante 15 minutos, y los gases se midieron los últimos 5 minutos (Bäckman *et al.*, 2012).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 **Ámbito experimental**

El estudio se realizó en la Estación Experimental Agraria Illpa del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), ubicada en el Km 22 de la carretera panamericana Puno-Juliaca, distrito de Paucarcolla, provincia y Dpto. de Puno, a 3815 metros de altitud, en las coordenadas 70°04'25" de longitud oeste y 15°10'45" de latitud sur, correspondiente a la zona agro ecológica Suni, con una presión atmosférica de 473.5 mmHg, con una temperatura del aire máxima de 18.7 y mínima de 1.8°C, un promedio 10.24°C. Y una precipitación pluvial promedio de 30.3 mm (SENAMHI, 2014). La superficie de la Estación Experimental es de 400 ha, con potencial para la producción de forrajes anuales de avena (*Avena sativa*), pastos cultivados de la asociación alfalfa (*Medicago sativa*) y dactilis (*Dactylis glomerata*) y pastos naturales de la asociación ch'illiwa (*Festuca dolichophylla*) y grama (*Muhlenbergia fastigiata*) (pajonal de puna) (INIA, 1997). Los análisis químicos de las muestras de forrajes y pastos se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

3.2 **Instalaciones**

Las instalaciones estuvieron conformadas por dos corrales, en uno de los cuales, pernoctaron las vacas y en el otro se suministró el concentrado fibroso. Se utilizó una cámara de respiración acondicionada para medir las emisiones de metano, con dimensiones de 4.2 metros de largo, 3.5 m de ancho y 2.3 m de alto, cuyas paredes fueron forradas con plástico, haciéndola impermeable, y una puerta

metálica deslizable de 1.92m de alto x 1.25m de ancho eso fue para el ingreso del animal. Con un volumen de 33.81 m³.

3.3 Animales

Para el experimento se utilizó un lote de 24 vacas lecheras Brown Swiss en producción, obtenidas de un hato de 40 vacas, distribuidas al azar en dos grupos de 12 vacas por grupo, equivalentes en peso vivo, producción de leche y edad en años y finalizaron con mayor peso corporal y producción de leche las vacas suplementadas con concentrado fibroso a diferencia vacas sin suplemento, (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución de vacas lecheras para el experimento, resultados de peso vivo, producción de leche y porcentaje de grasa

| Variable | (n) | Con suplemento | Sin suplemento | P _{value} |
|------------------------------------|-----|----------------|----------------|--------------------|
| Peso vivo, Kg | 12 | 500 ± 58.9 | 499.8±45.8 | P>0.9939 |
| Producción de leche, Kg/d | 12 | 11.08±2.89 | 11.33±3.39 | P>0.8477 |
| Porcentaje de grasa, % | 12 | 4.566±0.116 | 4.685±0.122 | P<0.0226 |
| Edad en años. | 12 | 5.3±1.37 | 5.3±1.44 | P>1.000 |
| Peso vivo final, Kg | 12 | 565.7 ± 57.6 | 532.7 ± 48.1 | P>0.1429 |
| Ganancia de peso, Kg/74 días | 12 | 65.7 ± 14. 3 | 37.1± 68.1 | P> 0.1686 |
| Producción de leche al final, Kg/d | 12 | 12.13 ± 2.72 | 10.91 ± 2.79 | P>0.2901 |
| Volumen corporal de vacas | 12 | 0.44±0.045 | 0.42±0.038 | P> 0.2136 |

LW, Kg = 1.26016 BV (dm³) - 3.06084 (R² = 0.96), BV, dm³ = LW(kg) + 3.06084/1.26016 Dónde: LW = Peso vivo (del inglés Live Weight), BV = volumen corporal (del Inglés Body Volume). (Papatungan *et al.*, 2015).

Los requerimientos energéticos de las vacas, expresados como energía neta de lactación (ENL) se calcularon a través del método factorial mediante modelos de predicción sugeridos por NRC (2001), los mismos que incluyen mantenimiento, actividad física (pastoreo), ganancia de peso y producción de leche, ajustado para un sistema de crianza mixta (pastoreo y estabulación), (tabla 2).

Los demás requerimientos nutricionales se estimaron a partir de las tablas del (NRC, 1989; NRC, 2001).

El requerimiento energético de actividad física (AF o pastoreo) se estimó a través de la ecuación de Rochinotti (1998)

Tabla 2. Requerimientos nutricionales diarios de vacas lecheras en lactación con y sin suplementación de concentrado fibrosos. Estación Experimental Illpa (INIA).

| Variables | Tratamiento | Control |
|-------------------------------|-------------|---------|
| Peso vivo, Kg | 500.0 | 499.8 |
| Producción de leche, Kg/d | 11.08 | 11.33 |
| Consumo de materia seca, Kg/d | 20.027 | 17.385 |
| Requerimientos de ENL, Mcal/d | | |
| Mantenimiento | 11.125 | 10.675 |
| Actividad física | 0.556 | 0.534 |
| Ganancia de peso | 4.881 | 2.632 |
| Producción de leche | 9.616 | 8.873 |
| Total | 26.178 | 22.714 |
| Requerimientos de PC, Kg/d | | |
| Mantenimiento | 0.392 | 0.379 |
| Producción de leche | 1.155 | 1.066 |
| Total | 1.547 | 1.445 |

PC = proteína total, ENL = energía neta de lactación.

Cálculo de los requerimientos energéticos de las vacas (Método factorial):

Mantenimiento: $ENL_M, \text{Kcal/día} = 80 \text{ Kcal/W}_{\text{Kg}}^{0.75}$ (NRC, 1989)

Actividad física: $ENL_{AF}, \text{Kcal/d} = 1.2 \text{ Kcal} \times h \times W_{\text{Kg}}^{0.75}$ (Rochinotti (1998)

Ganancia de peso: $ENL_G, \text{Kcal/d} = 0.20 \times 80 \text{ Kcal/W}_{\text{Kg}}^{0.75}$ (NRC, 1989)

Producción de leche: $ENL_P, \text{Kcal/d} = 749 \text{ Kcal} \times 10 \text{ Kg LCG } 4\%$ (NRC, 1989)

ENL = energía neta de lactación; h = horas; W = peso corporal; LCG = leche corregida al 4% de grasa.

3.4 Alimentos y alimentación

Los alimentos para las vacas estuvieron conformados por pastos cultivados de la asociación alfalfa y dactilis de la época seca (disponibilidad limitada), forrajes conservados (heno de avena y ensilado de avena) ofrecidos enteros y concentrado fibroso elaborado partir de heno de avena, heno de la asociación alfalfa y dactilis, broza de cañigua, Grano de avena (descarte), Torta de algodón, Torta de soya, Urea, Harina de pescado, Melaza de caña, Sal común, Suplemento mineral comercial. (Tabla 3). Los forrajes fueron procesados mecánicamente, mediante molienda con un molino/picador forrajero® equipado

con dos cuchillas y 24 martillos accionados por el motor de un tractor, a través de una zaranda de 12 mm Ø (Roque et al., 2012). Mezclados y ofrecidos a las vacas lecheras del grupo experimental. La alimentación de las vacas estuvo sujeto al programa establecido por la Estación Experimental caracterizado por un sistema mixto con animales al pastoreo, suplementación de forrajes y concentrado fibroso en el grupo experimental. La etapa pre experimental tuvo una duración de 7 días y la etapa experimental de 74 días.

Tabla 3. Concentrado fibroso destinado a la alimentación de vacas lecheras de la Estación Experimental Agraria Illpa, INIA.

| Alimentos | Mezcla, % | Valor nutricional | |
|-------------------------------|-----------|-----------------------|-------|
| Heno de avena | 47 | H°, % máx. | 8 |
| Heno de alfalfa | 17 | EB, Mcal/Kg MS | 4.347 |
| Broza de cañigua | 10 | NDT, % | 67.33 |
| Grano de avena(descarte) | 12 | EM, Mcal/Kg MS | 2.361 |
| Torta de algodón | 5 | ENL, Mcal/Kg MS | 1.337 |
| Torta de soya | 2 | PC, % mín. | 16.52 |
| Urea | 2 | FDN, % | 48.82 |
| Harina de pescado | 3 | | |
| Melaza de caña | 1.25 | CNF, % | 24.07 |
| Sal común | 0.5 | EE, % | 4.38 |
| Suplemento mineral comercial® | 0.25 | Calcio, % mín. | 0.62 |
| | | Fósforo total, % mín. | 0.36 |
| Total | 100 | Sodio, % mín. | 0.2 |

Mezcla ajustada con el formulador Solver. H° = humedad, EB = energía bruta, NDT = nutrientes digestibles totales, EM = energía metabolizable, ENL = energía neta de lactación, PC = proteína cruda, FDN = fibra detergente neutro, CNF = glúcidos no fibrosos, EE = extracto etéreo.

La composición química de los forrajes, determinados mediante los métodos oficiales de la AOAC (1990) se muestra en el (anexo A6).

El consumo de materia seca se determinó a través de la medición de las cantidades de forrajes (henos y ensilado) y concentrado fibroso, ofrecidos en comedero; y la estimación de las cantidades de pastos cultivados consumidos en pastoreo. Dado que el consumo de forrajes y concentrado fibroso fue total, el consumo de materia seca en los pastos cultivados se estimaron por diferencia

entre la energía requerida por los animales y la energía consumida en los forrajes y concentrado fibroso, dividido por el contenido de energía (Kcal/Kg) de los pastos cultivados (Macon *et al.*, 2003; Smit *et al.*, 2005). La ingestión total de materia seca (IMS, Kg/d) corresponden a la sumatoria de la ingestión de materia seca en heno (H), ensilado (E), concentrado fibroso (C) y pastos cultivados (P).

$$IMS = IMSH + IMSE + IMSC + IMSP$$

Tabla 4. Consumo de materia seca de la ración total en vacas lecheras Brown Swiss. Estación Experimental Agraria Illpa, INIA-Puno (Octubre – Diciembre).

| Alimentos | CMS | ENL | PT | MS | ENL | PT |
|---|----------------|------|------|----------------|------|------|
| | Kg | Mcal | Kg | Kg | Mcal | Kg |
| | Con suplemento | | | Sin suplemento | | |
| Heno de avena | 6.99 | 9.1 | 0.46 | 6.99 | 9.1 | 0.46 |
| Ensilado de avena | 2.39 | 2.8 | 0.16 | 2.39 | 2.8 | 0.16 |
| Pastos (alfalfa, dactilis y rastrojos) | 4.98 | 6.7 | 0.66 | 8.01 | 10.8 | 1.06 |
| Concentrado fibroso | 5.66 | 7.6 | 0.94 | 0 | 0.0 | 0.00 |
| Total | 20.03 | 26.2 | 2.22 | 17.38 | 22.7 | 1.69 |
| Requerimiento | | 26.2 | 1.55 | | 22.7 | 1.44 |
| Diferencia | | 0 | 0.68 | | 0 | 0.24 |

3.5 Metodología

3.5.1 Estimación de las emisiones de CH₄ entérico

Las emisiones de CH₄ entérico se estimaron a través del modelo de predicción sugerido por Moraes *et al.* (2014), tanto para vacas lecheras, debido a la disponibilidad de los datos de entrada exigidos por el modelo, tales como la ingestión de materia seca (IMS) y el contenido de fibra detergente neutro (FDN) y extracto etéreo (EE) de la dieta consumida por los animales.

$$CH_4 \text{ (MJ/d)} = 0.796 \times IMS \text{ (Kg/d)} + 0.157 \times FDN \text{ (%MS)} - 0.219 \times EE \text{ (%MS)} - 1.285$$

Las emisiones de CH₄ entérico se expresaron en cantidades absolutas por día (litros, moles y gramos por día), como proporción del consumo (gramos, litros o % del consumo de materia seca o energía consumida) y en términos de

productividad (gramos o moles por unidad de producto obtenido); es decir, la denominada intensidad de las emisiones de metano entérico (Lovett *et al.*, 2003; Jordan *et al.*, 2006; Leslie *et al.*, 2008).

3.5.2 Medición n de las emisiones entérico (CH₄)

Las emisiones de CH₄ se determinaron a través de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (Gasmeter DX-4030), a partir de muestras del aire atmosférico de una cámara de respiración donde permanecieron las vacas durante un período de tiempo (Storm *et al.*, 2012). Los animales ingresaron dos en dos del mismo grupo a la cámara de respiración a partir de las 13 horas, permaneciendo durante 10 minutos en ella. El aparato, previa calibración con aire atmosférico, las mediciones fue interior de la cámara de respiración a una altura de 1.40m, y controlado desde el exterior por sistema inalámbrico (Bluetooth) de un PDA (personal digital assistant). El muestreo y análisis de la masa de aire contenida en la cámara de respiración se realizó en 10 minutos midiendo los últimos 3 minutos. Luego de retirar al animal, los gases fueron expulsados de la cámara por ventilación mecánica forzada durante 5 minutos, hasta disipación total. El manejo de los animales se realizó con arreglo al protocolo de medición de las emisiones de metano en ovinos (Williams *et al.*, 2007). Los resultados de los análisis se visualizaron en la pantalla del PDA, con salida de los gases en partes por millón en volumen (ppm).

Dado que la altitud tiene efecto sobre la presión atmosférica y las concentraciones de los gases (West, 2004), fue necesario corregir la presión atmosférica por efecto de la altitud (Ph) mediante la siguiente fórmula (Beychok, 2005):

$$P_h = P * \left(\frac{288 - 6.5h}{288} \right)^{5.2558}$$

Dónde:

P_h = presión atmosférica en altitud (mm Hg),

P = presión atmosférica en nivel del mar (mm Hg),

h = altitud (Km).

$$P_h = 760 * \left(\frac{288 - 6.5 * 3.815}{288} \right)^{5.2558}$$

$$P_h = 473.5$$

La concentración absoluta de metano (CH_4 , mg/m^3) se estimó considerando la presión atmosférica corregida y la temperatura registrada en altitud, tomando como peso molecular de $\text{CH}_4 = 16.04246 \text{ g/mol}$ (EPA, 2015), según la siguiente fórmula: Experimental Illpa del INIA (3815m) es, $P = 473.5 \text{ mmHg}$ y la temperatura del aire es, $T = 10.24^\circ\text{C}$ (SENAMHI, 2014).

$$\text{CH}_4, \text{mg}/\text{m}^3 = \frac{P_h * M * \text{ppm}}{RT}$$

Donde:

M = peso molecular de metano (g/mol),

ppmv = concentración relativa de metano en volumen,

R = constante de los gases ideales (62.4),

T = temperatura ($273.15 + ^\circ\text{C}$),

P_h = presión del aire a gran altitud (mm Hg).

Dado que las mediciones de metano se realizaron en condiciones naturales “base húmeda”, el aparato registró en el aire de la cámara de respiración, un promedio 0.28% de humedad para vacas con suplementación y 0.29% para vacas sin suplementación, por lo que las concentraciones de metano se ajustaron a la base seca, mediante la siguiente ecuación (Beychok, 2005):

$$C_{\text{Base seca}} = \frac{C_{\text{Base húmeda}}}{(1 - W)}$$

Dónde:

C = concentración de metano en el aire (mg/m³),

W = humedad (fracción de 1).

Puesto que los animales, al igual que todos los cuerpos o sustancias de la naturaleza se caracterizan por tener masa y volumen (Chang et al 2012), fue necesario restar el volumen del cuerpo de los animales del volumen total de la cámara de respiración (33.81 m³). El volumen del cuerpo de los animales se dedujo mediante el modelo de predicción del peso vivo de vacas del cruce Ongole (Nellore), comprendidas entre 2.5 y ≥7.5 años (Papatungan et al., 2015):

$$LW, \text{ Kg} = 1.26016 \text{ BV (dm}^3) - 3.06084 \text{ (R}^2 = 0.96)$$

$$\text{BV, dm}^3 = \frac{LW(\text{kg}) + 3.06084}{1.26016}$$

Dónde:

LW = Peso vivo (del inglés Live Weight),

BV = volumen corporal (del Inglés Body Volume)

El volumen promedio que ocupa las dos vacas fue de 0.88m³ para vacas del grupo con suplementación y 0.84 m³ para vacas sin suplementación. En tal sentido, la producción total de metano entérico (CH₄) del animal corresponde al producto de la concentración absoluta del gas (mg/m³) y el volumen total del aire (m³) presente en la cámara de respiración durante la permanencia de los animales, bajo la asumisión de que las vacas son las únicas fuentes de emisión de CH₄ entérico durante su permanencia en la cámara de respiración (Broucek, 2014).

A partir de este valor se ha calculado la producción total de metano durante las 24 horas del día (g, mol, etc.); luego, el volumen de metano producido, a partir de la ecuación universal de gases ideales (Chang et al 2012).

$$\text{Volumen de CH}_4 \text{ en litros} = \frac{n \cdot R \cdot T}{P}$$

Donde:

P= presión atmosférica (lugar de trabajo), en mm de Hg.

V =Volumen que ocupa el gas metano, en litros.

n = número de moles metano (m/PM).

R = Constante universal de los gases. (62.4 mmHg*L/mol).

T =temperatura absoluta en kelvin (° k). ° k = 273.15.

3.6 Análisis estadístico

Los resultados se expresaron en medidas de tendencia central y dispersión (promedio y desviación estándar). El efecto de la suplementación de concentrado fibroso sobre las variables en estudio (emisiones de metano) se analizaron mediante la prueba de comparación de medias con la t de Student, sujeta a pruebas de hipótesis a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$$

El valor t_c se estimara con la siguiente fórmula:

$$|t_c| = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{S^2_1}{n_1} + \frac{S^2_2}{n_2}}}$$

Dónde:

$|t_c|$ = Valor estimado de "t"

\bar{X}_1 = Media del grupo con suplementación.

\bar{X}_2 = Media del grupo sin suplementación.

S^2_1 = Varianza del grupo con suplementación.

S^2_2 = Varianza del grupo sin suplementación.

n_1 = Número de animales del grupo con suplementación.

n_2 = Número de animales del grupo sin suplementación.

IV. RESULTADO Y DISCUSIONES

4.1 Medición de las emisiones de metano entérico (CH₄) en vacas lecheras

Las mediciones de metano entérico con el equipo de Gasmeter DX-4030, en cámara de respiración con un volumen de 33.81m³ menos la diferencia dos volúmenes corporales en la cámara tenemos un promedio de 32.93m³ para cámara de respiración con vacas suplementadas y 32.97m³ para cámara de respiración con vacas no suplementadas, midiendo durante 10 minutos dando un resultado de 152.48 ± 5.48 ppm para vacas suplementadas con concentrado fibroso y para vacas de control de 166.26 ± 7.95 ppm al análisis estadístico nos indica hay diferencia significativa en cuanto emisiones de metano en ppm (P<0.0001) entre grupos (tabla 7).

Las emisiones de metano (CH₄) en gramos por día para las vacas suplementadas con concentrado fibroso es menor (P<0.000051) que vacas sin suplemento (311.48±11.22 vs. 340.08±16.26 CH₄, g/día/vaca,) respectivamente que muestra en la (Tabla 7). Nuestros resultados son mayores que reportaron de 280 g ± 18 por día/animales, obtenidos por la técnica de SF₆. Realizado en vaquillas alimentado con pasto natural de en altitud de 1140 m.s.n.m y una temperatura de 10 centígrados (Tallec et al., 2012). Y menores para vacas con suplementados encontrados por Lee et al (2004), Que reporta de 344.2 y 371.6 g CH₄/día/ vaca alimentadas con 30% y 60% ryegrass y el resto fue trébol. Obtenidos por la técnica de SF₆. Dini et al., (2012) reporta de 364 y 372 g CH₄/día/vaca alimentadas leguminosas y el otro gramíneas. Primavesi et al., (2004) encontró de 404 g CH₄/día/vaca holandesa y 331 g CH₄/día/vaca Mestizo lechera brasileña.

En comparación con los forrajes, los concentrados son generalmente más bajos en los componentes de la pared celular. Debido a la presencia de carbohidratos no estructurales (almidón y azúcares), los concentrados fermentan más rápido que los forrajes, dando lugar a niveles elevados de ácido propiónico. Sugieren que la producción de CH₄ se puede reducir en casi un 40% (272 a 170 g / día), cuando una rica dieta de forraje se sustituye por una dieta rica en concentrado. El aumento de la proporción de la dieta de concentrados generalmente reduce las pérdidas de CH₄ (Tamminga *et al.*, 2007).

Tabla 7. Emisiones de metano (CH₄) entérico en vacas lecheras con y sin suplementación de concentrado fibroso. Estación Experimental Agraria Illpa (INIA), Puno.

| Variables | (n) | Con suplem. | Sin suplem. | (PValue) |
|---|-----|---------------|---------------|----------|
| Ingestión de materia seca | 12 | 20.029±1.544 | 17.385±1.088 | 0.0001 |
| Producción de leche, Kg/día | 12 | 12.13± 2.72 | 10.91± 2.80 | 0.2901 |
| Producción de LCG, Kg/día | 12 | 12.84±3.0 | 11.85±3.03 | 0.4286 |
| CH ₄ , ppm/10 minutos | 12 | 152.48 ± 5.48 | 166.26 ± 7.95 | 0.0001 |
| CH ₄ , g/día base seca | 12 | 311.48±11.22 | 340.08±16.26 | 0.000051 |
| CH ₄ , litros/día | 12 | 725.12±26.13 | 791.70±37.85 | 0.000051 |
| CH ₄ , Kg/año | 12 | 113.69±4.10 | 124.13±5.93 | 0.000051 |
| CH ₄ , g/Kg IMS | 12 | 15.61±1.01 | 19.62±1.32 | 0.00001 |
| CH ₄ , g/Kg leche | 12 | 26.72±5.19 | 33.30±9.85 | 0.052832 |
| CH ₄ , Mol/d | 12 | 19.42±0.70 | 21.20± 1.01 | 0.00005 |
| CH ₄ , Mol /Kg LCG | 12 | 1.58± 0.32 | 1.91± 0.57 | 0.043864 |
| CH ₄ , L/RE Mcal | 12 | 50.66±5.98 | 69.49±7.03 | 0.00001 |
| CH ₄ , mol /RE Mcal | 12 | 1.36±0.16 | 1.86±0.19 | 0.00001 |
| CH ₄ , CO ₂ e, g/Kg IMS | 12 | 390.34±25.22 | 490.46±33.08 | 0.00001 |
| CH ₄ , CO ₂ e Mol/d | 12 | 485.40±17.49 | 529.97±25.34 | 0.000051 |

* Concentración relativa registrada con Gasmeter DX-4030, a los 10 minutos de encierro a la vaca en cámara de respiración. (ppm); partes por millón $Ph = P \times [(288 - 6.5h)/288]5.2558$; (h= altitud en km es 3. 815 m.s.n.m). Ph= 473.5 mmHg (Beychok 2005).

$CH_4 \text{ mg/m}^3 = Ph \cdot M \cdot \text{ppm} / RT$; (Donde: M = peso molecular de metano (g/mol), ppmv = concentración relativa de metano en volumen, R = constante de los gases ideales (62.4 mmHg*L/mol).

$CH_4 \text{ mg/m}^3 = Ph \cdot M \cdot \text{ppm} / RT$; (Donde: M = peso molecular de metano (g/mol), ppmv = concentración relativa de metano en volumen, R = constante de los gases ideales (62.4 mmHg*L/mol, T = temperatura (273.15 + 10.24 °C) T=283.3875 °K , Ph = presión del aire a gran altitud (mm Hg).Peso molecular del metano: CH₄ = 16.04246 g/mol (EPA, 2015).

C"Base seca" = C"Base húmeda" /((1-W)) donde :C = concentración de metano en el aire (mg/m³), W = humedad (fracción de 1).(Beychok 2005).

Volumen de CH₄ en litros = ((R*T)/P)(m/M) donde; P= presión atmosférica (lugar de trabajo), en mm de Hg, V =Volumen que ocupa el gas metano, en litros, m = masa, mmHg = milímetro de mercurio, °C= centígrados, °K= kelvin, g= gramos, kg= kilogramo, v= volumen, L= litros, d= día. h = horas; W = peso corporal; LCG = leche corregida al 4% de grasa. IMS = ingestión de materia seca. RE= energía retenida (ganancia de peso diario*5.5+LCG*0.749), CO₂e = equivalencia de dióxido de carbono.

Las emisiones en litros por día de metano entérico para vacas suplementados con concentrado fibroso es menor que las vacas no suplementadas, teniendo un promedio (725.12 ± 26.13 vs 791.70 ± 37.85 L $\text{CH}_4/\text{días/vaca}$). Estadísticamente es significativo entre grupos ($P < 0.000051$). En comparación con otros autores nuestros resultados son mayores debido a la baja presión atmosférica de 473.5 mmHg a una altitud de 3815 m.s.n.m. Que encontraron a nivel del mar de 516 L/d de metano por animal alimentadas con alimentados a base de gramíneas y leguminosas este trabajo realizado en Uruguay, obtenidos por la técnica de SF6 (Dini *et al.*, 2012). En 36 vacas en lactación con un peso vivo 600 kg y 39.1 litros de leche. Reporta una producción de metano 637 litros / día/ vaca con una producción (Johnson *et al.* 2002). La calidad forrajera afecta la producción de CH_4 en el ganado. Así, las vacas alimentadas con pastos de alfalfa-cebadilla consumieron mayor cantidad de materia seca que las vacas alimentadas con cebadilla sola (11.4 vs. 9.7 Kg/d), pero eliminaron menor cantidad de metano (373.8 vs. 411.0 L/d) y menor pérdida de energía como CH_4 (7.1 vs. 9.5%EB) (McCaughy *et al.*, 1999).

Las emisiones de metano entérico kilogramos por animal al año es menor para vacas suplementadas con concentrado fibroso (113.69 ± 4.10 vs 124.13 ± 5.93 kg $\text{CH}_4/\text{año/vaca}$). Esta diferencia al análisis estadístico nos indica significativo ($P < 0.000051$). Nuestros resultados encontrados menor de los Schils *et al.* (2006), Para vacas que produjeron 8 000 kg de leche al año, y emitieron 130 kg CH_4 por año por vaca. Primavesi *et al.* (2004), que encontró 147 kg/año /vaca holandesa y 121 kg/año /vaca Mestizo lechera brasileña. Por Kebreab *et al.*, (2006), reporta utilizando la técnica de medición (calorimetría de la respiración,

el equilibrio de masas, trazador de SF₆), con una producción de 8 000 kg leche por vaca, esto equivale a 143 kg CH₄ al año.

Las experiencias de alimentación del ganado con concentrados basados en granos han mostrado que el incremento de cereales en la dieta disminuye la cantidad total de metano producido en el rumen; debido a la disminución del pH y el incremento en el uso del H₂ en la producción de propionato del contenido ruminal (Van Kessel y Russell, 1996).

Principal limitación para el uso de alimento forrajero procesados para reducir las emisiones de CH₄ es el costo económico para los productores de ganado. La formación de productos finales de la fermentación en el rumen también se vio afectado por el procesamiento del heno: granulación heno de alfalfa disminuyó la producción de AGV. La producción de metano se redujo (20%) por el tratamiento físico de heno (Mekuriaw *et al.* 2014).

La producción de metano entérico gramos de (CH₄) por Kg de IMS en vacas suplementadas con concentrado fibroso es menor que las vacas no suplementadas (P<0.00001). Con un promedio de (15.61±1.01 vs. 19.62±1.32 g CH₄/Kg IMS). Nuestros resultado es menor reportado por, Lee *et al* (2004) En el estudio realizado en Zelanda en vacas alimentadas con 60% de trébol blanco y 100% de raigrás perenne que fue de 20.5 vs 15.6 kg de MS / vaca / día produciendo 18,1 vs. 21,7 g CH₄ / kg.

La emisión de metano entérico por kilogramo de leche producido fue menor para vacas suplementadas de vacas no suplementadas con concentrado fibrosos (26.72±5.19 vs 33.30±9.85 g CH₄ /Kg leche), estadísticamente resulto insignificativo (P≥0.052832) esto se debe a la similitud en la producción de leche entre tratamientos que muestra en la (tabla 7). Los resultados son similares

encontrado por. Lassey *et al* (2004), el primer pastos perenne a base de raigrás y el segundo dieta es de taninos y leguminosas teniendo una emisión de metano 32 vs 23g CH₄ / kg de leche, determinado mediante la técnica trazador SF₆.

Y mayores encontrados por Van Laar y Van Straalen (2004), estudio realizado en segundo tercio de lactación ganado lechero, medido en cámaras de respiración de Wageningen encontró 12.7 g CH₄.kg, a 31 kg de leche día. Otros resultados más recientes para vacas en lactancia temprana (1-9 semanas de la lactancia) encontró de 9,4 g CH₄.kg⁻¹ a 40 kg de leche día (Van Knegsel *et al.*, 2007). Los resultados serían mayor debido a la baja producción de leche por las vacas de estudio realizado.

El par de valores de mayor contraste corresponde a la intensidad de las emisiones; es decir, la cantidad de CH₄ producido por unidad de producto obtenido. En el presente caso, puesto que las vacas alimentadas con concentrado fibroso ganaron mayor peso y producción de leche corregida a grasa al 4%(LCG), con relación a las vacas que no fueron suplementadas con concentrados fibrosos (0.887±0.193 vs. 0.479±0.258 Kg/día y 12.84±3.0 vs. 11.85±3.03 kg LCG/d respectivamente), Las vacas con suplementación de concentrado fibroso producen menor intensidad (P<0.00001) que las no suplementadas en litros y moles sobre energía retenida (RE), (50.66±5.98 vs. 69.49±7.03 CH₄, L/RE Mcal; 1.36±0.16 vs. 1.86±0.19 CH₄, mol /RE Mcal). Así mismo, dado que la presión atmosférica a 3815m de altitud desciende a 473.5mmHg y una temperatura promedio de 10.24°C, el volumen estimado de 1 mol de metano en esas condiciones de altitud, presión atmosférica y temperatura fue de 37.35 L/mol (más no 22.4 L/mol como ocurre en condiciones estándar); las vacas suplantadas con concentrado fibrosos emitieron menor

($P < 0.00001$) cantidad de metano entérico en equivalentes CO_2 las vacas sin suplementar (485.40 ± 17.49 vs. 529.97 ± 25.34 CO_2 e Mol/d; 390.34 ± 25.22 vs. 490.46 ± 33.08 CO_2 g/Kg IMS) de CH_4 entérico.

Estimación de las emisiones de metano entérico (CH_4) en vacas lecheras

Tabla 8. Emisiones de metano (CH_4) entérico en vacas lecheras con y sin suplementación de concentrado fibroso. Estación Experimental Agraria Illpa (INIA), Puno.

| Variables | (n) | Con suplem. | Sin suplem. | (P _{Value}) |
|-------------------------------------|-----|--------------------|--------------------|-----------------------|
| Ingestión de materia seca | 12 | 20.029 ± 1.544 | 17.385 ± 1.088 | 0.0001 |
| Producción de leche, Kg/día | 12 | 12.12 ± 2.72 | 10.91 ± 2.80 | 0.2901 |
| Emisiones de CH_4 entérico | | | | |
| CH_4 , Moles/día) | 12 | 23.042 ± 1.379 | 20.328 ± 0.972 | 0.00001 |
| g CH_4 /LCG | 12 | 29.73 ± 4.96 | 29.08 ± 7.54 | 0.8049 |
| CH_4 , g/día | 12 | 368.67 ± 22.06 | 325.25 ± 15.55 | 0.00001 |
| CH_4 , g/Kg IMS | 12 | 18.43 ± 0.30 | 18.72 ± 0.28 | 0.0212 |
| CH_4 , g/Kg de leche | 12 | 31.42 ± 5.13 | 31.56 ± 8.11 | 0.9611 |
| CH_4 , litro/día | 12 | 952.83 ± 57.01 | 840.61 ± 40.19 | 0.00001 |

EB=Energía bruta, ENL=energía neta de lactación, GP=ganancia de peso. **Cálculo de las emisiones de metano entérico (CH_4):** (Moraes et al., 2014) . CH_4 (MJ/d) = $0.796 \times \text{IMS (Kg/d)} + 0.157 \times \text{FDN (\%MS)} - 0.219 \times \text{EE (\%MS)} - 1.285$. Dónde: IMS = ingestión de materia seca FDN = Fibra detergente neutro EE = Extracto etéreo. MS = Materia seca del alimento

Las vacas con suplementación de concentrado fibroso eliminaron menor que vacas no suplementadas; en gramos de metano por kilogramo leche corregida a grasa al 4%, (29.73 ± 4.96 vs. 29.08 ± 7.54 g CH_4 /LCG), indicando que la suplementación de concentrado fibroso no tuvo efecto sobre las emisiones de metano entérico por eso método ($P > 0.8049$).

Los resultados encontrados son mayores encontrado por Lovett *et al.*, (2005) con la suplementación con concentrado resultó en un aumento significativo en la producción de leche, la leche corregida en grasa (LCG). La disminución de la producción de CH_4 por kilogramo de leche fue no significativa; ($19,26$ y $16,02$ g de CH_4 / kg de LCG). Estos resultados sugieren que el aumento del uso de

concentrado fibroso en el pasto, incluso a niveles modestos, podría reducir la producción de CH₄ entérica por kilogramo de producto de origen animal.

El procesamiento mecánico disminuye el tamaño de partícula de los forrajes, altera la densa matriz proteica de los granos haciendo más disponible los carbohidratos solubles y nutrientes para la digestión y el crecimiento microbiano, disminuye la concentración ruminal de acetato y aumenta la de propionato (Johnson *et al.*, 2002). La formación de ácido propiónico utiliza protones (H⁺), disminuye la disponibilidad de energía para la metanogénesis (Hegarty, 1999) y aumenta la disponibilidad de energía para la producción (Moss *et al.*, 2000).

Tabla 9. Contraste entre medición y estimación de las emisiones de metano entérico (CH₄) de vacas con y sin suplementación de concentrado fibroso.

| Variabes | (n) | Medición | Estimación | (P _{Value}) |
|--------------------|-----|--------------|--------------|-----------------------|
| Con suplementación | 12 | 311.48±11.22 | 368.67±22.06 | < 0.00001 |
| Sin suplementación | 12 | 348.75±16.67 | 325.25±15.55 | < 0.03241 |

Las emisiones de metano por métodos de determinación, muestra la técnica de FTIR (usando el equipo de gasmet DX 4030) menor emisión para los dos grupos con suplemento y sin suplemento mientras por estimación de emisión de metano por el modelo de (Moraes *et al.* 2014, que determina a través de la ingestión de materia seca (IMS) y el contenido de fibra detergente neutro (FDN) y extracto etéreo (EE) de la dieta consumida por los animales. Entre la medición y estimación hay una diferencia de 57.19 gramos de metano para vacas suplementado con concentrado fibroso. La medición es 15.5 % menor que la estimación para vacas con suplemento. Y para vacas de control hay una diferencia 14.83 gramos de metano. La medición de metano reporta el 4.55 % mayor que la estimación.

V. CONCLUSIONES

La medición a través del equipo de gasmet DX 4030. Las emisiones de metano entérico, en vacas suplementadas es menor que vacas control (311.48 vs. 340.08) gramos CH_4 / día por vaca y en litros es de (725.12 vs. 791.70) litros de metano por vaca. Con el concentrado fibroso se redujo el 8.4 % metano entérico por día.

En la estimación de metano entérico las vacas de control emitieron menor cantidad de 11.7 % de gramos CH_4 / día por vaca, que vacas suplementadas con concentrado respectivamente (325.25 vs 368.67) g/d.

Entre los métodos de determinación de medición y estimación de metano entérico. Por la técnica de FTIR (El equipo de gasmet DX4030) tiene un menor cantidad de emisión de metano entérico para vacas con suplemento de 15.5 %, de la estimación de emisión de metano por el modelo de Moraos et al. (2014). Y para vacas sin suplemento las mediciones de emisión es mayor de 4.55 % que la estimación. Donde la técnica de FTIR muestra los resultados más reales de la emisión de metano entérico.

VI. RECOMENDACIONES

Repetir este tipo de trabajo en vacas criollas de la altura y vacunos de engorde.

Realizar medición de metano entérico con la técnica de FTIR, En ensayos del alimentación del ganado vacuno con concentrados fibrosos como mezcla en ración total, tendiente al manejo en confinamiento.



VII. BIBLIOGRAFÍA

- Abecia, L., A. I. Martín-García, G. Martínez, C. J. Newbold, and D. R. Yáñez-Ruiz. 2013. Nutritional intervention in early life to manipulate rumen microbial colonization and methane output by kid goats postweaning. *J. Anim. Sci.*, 91:4832-4840.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th edition.
- Bäckman. K., 2012, The effect of additional nitrate and sulfur in the diet on the methane production in cattle, Swedish University of Agricultural Sciences Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science Department of Animal Nutrition and Management, pag 6.
- Bargo, F., L.D. Muller, E.S. Kolver y J.E. Delahoy, 2003. Invited Review: Production And Digestion Of Supplemented Dairy Cows On Pasture. *J. Dairy Sci.* 86:1–42.
- Beauchemin, K.A., M. Kreuzer, F. O'mara, and T.A. Mcallister. 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: a review. " *Australian journal of experimental agriculture* 48(2)21-27
- Benchaar, C., J. Rivest, C. Pomar, and J. Chiquette. 1998. "Prediction of methane production from dairy cows using existing mechanistic models and regression equations." *J. Anim. Sci.* 76(2):617-27.
- Beychok, M. 2005. *Fundamentals of spack gas dispersión*. 4th ed. Milton R. Beychok, California, UEA.
- Bhatta, R., O.Enishi, and M. Kurihara, 2007. Measurement of Methane Production from Ruminants, *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* Vol. 20, No. 8 : 1305 – 1318
- Boadi, D.A., K.M. Wittenberg, and W. Mccaughey. 2002. "Effects of grain supplementation on methane production of grazing steers using the sulphur (SF₆) tracer gas technique." *Canadian J. Anim. Sci.* 82(2):151-57.
- Brouček, J. 2014. Methods of methane measuring in ruminants. *Slovak J. Anim. Sci.*, 47: 81-90.

- Chang, R., R. Alavarez, S. Ponce y R Zugazagoitia. 2012. Quimica.
- Dehority, B.A and C.G Orpin. 1997. Development Of, and natural fluctuations in, rumen microbial population. In: the rumen microbial ecosystem. 196-245 (Eds P. N. Hobson and C. S. Stewart). Londres, Reino Unido: Chapman and Hall.
- Dehority, B.A. 2003. Rumen Microbiology. Nottingham, Reino Unido: Nottingham University Press.
- Deng, W., X.D. Mao, H, and M. Wanapat. 2008. The use of molecular techniques based on ribosomal RNA and DNA for rumen microbial ecosystem studies: A Review. *Molecular Biology Reports*. 35: 265-274.
- Dini .Y., J. Gere, C. Briano, M. Manetti, P. Juliarena, V.Picasso, R. Gratton and L. Astigarraga 2012. Methane Emission and Milk Production of Dairy Cows Grazing
- Doreau, M., H. M. G. van der Werf, D. Micol, H. Dubroeuq, J. Agabriel, Y. Rochette, and C. Martin. 2011. Enteric methane production and greenhouse gases balance of diets differing in concentrate in the fattening phase of a beef production system. *J. Anim. Sci.*, 89:2518-2528.
- EPA (United States Environmental Protection Agency). 2015. The National Institute of Standards and Technology, Atomic Weights.
- FAO. 2003. World agriculture: towards 2015/2030. An FAO perspective. FAO, Rome, p 97.
- FAO. 2006. World Agriculture towards 2030/2050. Interim report. Global Perspective Studies Unit. FAO, Rome.
- FAO. 2011. World Livestock 2011. Livestock in food security. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2011.
- Fonty, G., K. Joblin, M. Chavaro, R. Roux, G. Naylor, and F. Michallon. 2007. Establishment and Development of Ruminal Hydrogenotrophs in Methanogen-Free Lambs. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:6391-6403.
- Gasmet^{MR},2012, Gasmet DX-4030 USER MANUALFTIR Gas Analyser On-site Series Instruction and Operating Manual Version E1.18 (5.12.2012)

- Getachew, G., M. Blümmel, H. Makkar, and K. Becker. 1998. "In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: A review." *Animal Feed Science and Technology* 72(3):261-81.
- Hegarty, R.S. 2002. "Strategies for mitigating methane emissions from livestock – Australian options and opportunities. in: takahashi j, young ba (eds) *ghges and animal agriculture*. Elsevier, Dordrecht ".
- Hook, S. E., A. D. G. Wright, and B. W. McBride. 2010. Methanogens: Methane producers of the rumen and mitigation strategies. *Archaea*. 2010:1-11.
- Hristov, A. N., J. Oh, J. L. Firkins, J. Dijkstra, E. Kebreab, G. Waghorn, H. P. S. Makkar, A. T. Adesogan, W. Yang, C. Lee, P. J. Gerber, B. Henderson, and J. M. Tricarico. 2013. Special Topics — Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: i. a review of enteric methane mitigation options. *J. Anim. Sci.*, 91:5045-5069.
- Hungate, R.E. 1966. *The rumen and its microbes*. Nueva York, Eeuu: Academic Press.
- INIA (Instituto Nacional de Investigación Agraria). 1997. Plan Operativo. Campaña Agrícola 1997. Ministerio de Agricultura. Illpa-Puno.
- IPCC Intergovernmental Panel on Climate Change, 2007. *Climate change, the physical science basis*. Camb. Univ. Press, Cambridge, U.K.
- Ishler, V; J. Heinrichs, and G. Varga. 1994. from *Feed to Milk: Understanding rumen function*; Extension circular No. 422, Pennsylvania State University, College Of Agricultural Sciences: Pages 5. Disponible En: [Http://pubs.cas.psu.edu/freepubs/pdfs/ec422.pdf](http://pubs.cas.psu.edu/freepubs/pdfs/ec422.pdf).
- Janssen, P.H., and M. Kirs, 2008. Structure of the archaeal community of the rumen. *Applied and environmental microbiology*. 74:3619-3625.
- Joblin, K.N., H. Matsui, G.E. Naylor, and K. Ushida, 2002. Degradation of fresh ryegrass by methanogenic co-cultures of ruminal fungi grown in the presence or absence of fibrobacter succinogenes. *Current Microbiology*. 45: 46–53.
- Johnson, K. A., H. H. Westbeg, J. J. Michal, and M. W. Cossalman. 2007. "Measuring methane emission of ruminants by in vitro and in vivo

techniques." Pp. 33-67 in measuring methane production from ruminants, edited by Harinder P.S.; Vercoe Makkar, Philip E. (Eds.). Vienna, Austria: Springer.

Johnson, K. A., H. H. Westberg, B. K. Lamb and R. L. Kincaid. 2002. The use of sulphur hexafluoride for measuring methane emissions from farm animals. In Proc. 1st international conference on greenhouse gases and animal agriculture, Obihiro, Hokkaido, Japan, pp. 72-81.

Johnson, K.A., and D.E. Johnson, 1995. Methane Emissions. *J. Anim. Sci.* 73: 2483-2492.

Jordan, E., D. Kenny, M. Hawkins, R. Malone, D. K. Lovett, and F. P. O'Mara. 2006. Effect of refined soy oil or whole soybeans on intake, methane output, and performance of young bulls. *J. Anim. Sci.*, 84:2418-2425.

Kebreab, E., K. Clark, W. Riddle & J. France, 2006. Methane and nitrous oxide emissions from Canadian agriculture. A review. *Can. J. Anim. Sci.*, 86, 135-158.

Kim, M., M. Morrison, and Z. Yu. 2011. Status of the phylogenetic diversity census of ruminal microbiomes. *Fems microbiology ecology.* 76:49-63.

Koenig, K.M; C.J Newbold; F.M. Mcintosh, and L.M. Rode, 2000. Effects of protozoa on bacterial nitrogen recycling in the rumen. *J. Anim. Sci.* 78: 2431- 2445.

Lassey, K.R., S.L.Woodward., G.C. Waghorn and P.G. Laboyrie P.G., Dexcel (2004). On feeding legume forages containing condensed tannins to dairy cows to reduce methane emissions, New Zealand.

Lee, J. M., S. L. Woodward, G. C. Waghorn, and D. A. Clark., 2004 Methane emissions by dairy cows fed increasing proportions of white clover (*Trifolium repens*) in pasture. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* 66: 151–155 (2004).

Leslie, M., M. Aspin, and H. Clark. 2008. Greenhouse gas emissions from New Zealand agriculture: Issues, perspectives and industry response. *Aust. J. Exp. Agric.*, 48: 1-5.

- Lovett, D. K., L. J. Stack, S. Lovell, J. Callan, B. Flynn, M. Hawkins, and F. P. xO'Mara. 2005. Manipulating enteric methane emissions and animal performance of late-lactation dairy cows through concentrate supplementation at pasture. *J. Dairy Sci.*, 88: 2836-2842.
- Lovett, D. K., S. Lovell, L. Stack, J. Callan, M. Finlay, J. Connolly, and F. P. O'Mara. 2003. Effect of forage/concentrate ratio and dietary coconut oil level on methane output and performance of finishing beef heifers. *Livest. Prod. Sci.*, 84: 135-146.
- Machmüller, A., and H. Clark. 2006. First results of a meta-analysis of the methane emission data of New Zealand ruminants. *International Congress Series*, 1293: 54-57.
- Macon, B., L. E. Sollenberger, J. E. Moore, C. R. Staples, J. H. Fike, and K. M. Portier. 2003. Comparison of three techniques for estimating the forage intake of lactating dairy cows on pasture. *J. Anim. Sci.*, 81: 2357-2366.
- Martin, C., D.P Morgavi, and M. Doreau. 2010. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal*, 4: 351-365.
- Mc Allister, T. A., and C. J. Newbold. 2008: Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. *Aust. J. Exp. Agr.*, 48: 7-13.
- Mc Crabb, G. J.; and R. A. Hunter. 1999. "Prediction of methane emissions from beef cattle in tropical production systems." *Australian Journal of Agricultural Research* 50:1335-39.
- Mc Michael, A.J., J.W. Powles., C.D Butler., and R. Uauy, 2007. Food, livestock production, energy, climate change, and health. *The lancet*. 370: 1253–1263.
- McCaughey, W. P., K. Wittenberg, and D. Corrigan. 1999. Impact of pasture type on methane production by lactating beef cows. *Can. J. Anim. Sci.*, 79:221-226.
- Mekuriaw. S., F. Tegegn and A. Mengistu. 2014. A review on reduction of greenhouse gas emission from ruminants through nutritional strategies. *Academia Journal of Environmental Sciences* 2(1): 6-14.

- Mertens, D. R. 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 80:1463-1481
- Mertens, D.R. 2002. *J. Anim. Sci.* 64, 1548
- Mills, J A, J Dijkstra, A Bannink, S B Cammell, E Kebreab, and J France. 2001. "A mechanistic model of whole-tract digestion and methanogenesis in the lactating dairy cow: model development, evaluation, and application. *J. Anim. Sci.*, 79(6): 1584-97.
- Moe, P. W., W. P. Flatt, and H. F. Tyrrell. 1972. Net energy value of feeds for lactation. *J. Dairy Sci.*, 55:945-958.
- Montzka, S. A., E. J. Dlugokencky, and J. H. Butler. 2011. Non-CO₂ greenhouse gases and climate change. *Nature*, 476:43-50.
- Moraes, L., J. Fadel, A. Castillo, E. Kebreab. 2014. Minimizing diet costs and enteric methane emissions from dairy cows. Nicholas Institute for Environmental Policy Solutions. Report NI GGMOCA R 5. February 2014. Greenhouse Gas Mitigation Opportunities in California Agriculture, California.
- Morgavi, D. P., E. Forano, C. Martin, and C. J. Newbold. 2010. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal*, 4:1024-1036.
- Moss, A. R., J. Jouany, and J. Newbold. 2000. "Methane production by ruminants: its contribution to global warming." *Ann. Zootech.* 49(3):231-53.
- NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration). 2013. The methane bomb, clathrates, and arctic tundra. *Life in a world at 1830 parts per billion and rising.*
- NRC (National Research Council). 1989. Nutrient requirements of dairy cattle. National academy press. Washington, Dc.
- NRC (National Research Council). 1996. Nutrient Requirements of beef cattle. National academy press, Washington, Dc.
- NRC (National Research Council). 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. National academy press. Washington, Dc.

- NRC. National Research Council 2003. Air emissions from animal feeding operations. National Academy Of Science, Washington, Dc. 263.
- Paputungan, U., L. Hakim, G. Ciptadi, and H. F. N. Lopian. 2015. Application of body volumen formula for predicting live weight in Ongole crossbred cows. *Internat. J. Livest. Prod.*, 6: 35-40.
- Patra, A. K. 2012. Enteric methane mitigation technologies for ruminant livestock: a synthesis of current research and future directions. *Environ. Monit. Assess.*, 184:1929-1952.
- Pedreira, Márcio Dos Santos, Odo Primavesi, Magda Aparecida Lima, Rosa Frighetto, simone gisele de oliveira, and telma teresinha berchielli. 2009 "ruminal methane emission by dairy cattle in southeast Brazil." *Scientia Agricola* 66:742-50.
- Peyraud, JI; L, Delaby, R, Delagarde. 1997. XXIII Reunión Anual, Sociedad Chilena De Producción Animal, Valdivia, Chile, Pp 60-93.
- Pinares, C. S., G. C. Waghorn, R. S. Hegarty, and S. O. Hoskin. 2009: Effects of intensification of pastoral farming on greenhouse gas emissions in New Zealand. *New Zealand Veter. J.*, 57:252-261.
- Primavesi. O., R. Toyoko., M. S. Pedreira., M. A. Lima., T. T. Berchielli e P. Franklin Barbosa, 2004. Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras. *Pesq. Agropec. Bras.*, Brasília, v.39, n.3, p.277-283, mar. 2004.
- Pulido, R. 1997. Interaction of pasture conditions, concentrate supplementation and milk yield level in relation to dairy cow performance and behaviour. Tesis doctoral, university of London.
- Purcell, P. J., J. Grant, T. M. Boland, D. Grogan, and P. O'Kiely. 2012. The in vitro rumen methane output of perennial grass species and white clover varieties, and associative effects for their binary mixtures, evaluated using a batch-culture technique. *Anim. Prod. Sci.*, 52:1077-1088.
- Ravishankara, A. R., J. S. Daniel, and R. W. Portmann. 2009: Nitrous oxide (N₂O): the dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st Century. *Science*, 326:123-125.

- Rochinotti, D. 1998. Model components of forage-fed cattle systems: Energy expenditure of grazing cattle and prediction of intake in dairy cows. Ph.D. Diss., University of Florida, Gainesville.
- Roque, B., J. L. Bautista, M. J. Araníbar, R. D. Rojas, D. Pineda, A. Flores, F. Rojas y C. Pinares. 2012. Uso de concentrado fibroso en el incremento de la productividad y la disminución de las emisiones de metano entérico en ganadería de altura. XXXV Reunión Científica Anual de la Asociación Peruana de Producción Animal (APPA 2012). Libro de Resúmenes, pp 11-19.
- Schils, R.L.M., Oudendag, D.A., Van der Hoek, K.W., De Boer, J.A., Evers, A.G. & M.H. De Haan, 2006. Broeikasgasmodule BBPR. Animal Sciences Group, Praktijkrapport Rundvee 90.
- SENAMHI, 2014. <http://puno.senamhi.gob.pe/web/index.php?p=1021>.
- Sharp, R., Ziemer, C.J., Stern, M.D., and Stahl, D.A. 1998. Taxon-specific associations between protozoal and methanogen populations in the rumen and a model rumen system. *Fems microbiology ecology*. 26: 71-78.
- Smit, H. J., H. Z. Taweel, B. M. Tas, S. Tamminga, y A. Elgersma. 2005. Comparison of techniques for estimating herbage intake of grazing dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 88:1827-1836.
- Smith, J., K. Sones, D. Grace, S. Macmillan, S. Tarawali, and M. Herrero 2004. Beyond Milk, meat, and eggs: role of livestock in food and nutrition Security. *Anim. Front.*, 3:6-13.
- Storm, M. L. D., A. L. F. Hellwing, N. I. Nielsen, and Jørgen Madsen. 2012. Methods for Measuring and Estimating Methane Emission from Ruminants: Review. *Animals*, 2: 160-183.
- Sun, Y.Z., Mao, S.Y., and Zhu, W.Y. 2010. Rumen chemical and bacterial changes during stepwise adaptation to a high-concentrate diet in goats. *Animal*. 4: 210- 217.
- Tajima, K., T., Nagamine, H. Matsui, M. Nakamura, and R.I. Aminov. 2001. Phylogenetic analysis of archaeal 16s rRNA libraries from the rumen

- suggests the existence of a novel group of archaeas not associated with known methanogens. *Fems microbiology letters*. 200: 67-72.
- Taliec T., K. Klumpp, A. Hensen, Y. Rochette, and J. F. Soussana., 2012. Methane emission measurements in a cattle grazed pasture: a comparison of four methods. *Biogeosciences Discuss.*, 9, 14407–14436, 2012
- Tamminga S., A. Bannink., J. Dijkstra and R. Zom. 2007. Feeding strategies to reduce methane loss in cattle. Wageningen University, Group Animal Nutrition, Animal Sciences Group, Wageningen UR, Lelystad. February 2007.
- Thauer, R.K., A.K. Kaster., H. Seedorf., W. Buckel., and R. Hedderich, R. 2008. Methanogenic archaea: ecologically relevant differences in energy conservation. *Nature Reviews in Microbiology*. 6: 579-91.
- Tian, H., C. Lu, G. Chen, B. Tao, S. Pan, S. J. Del Grosso, X. Xu, L. Bruhwiler, S. C. Wofsy, E. A. Kort, and S. A. Prior. 2012. Contemporary and projected biogenic fluxes of methane and nitrous oxide in North American terrestrial ecosystems. *Front. Ecol. Environ.*, 10:528-536.
- Ulyatt, M. J., K. R. Lassey, I. D. Shelton, and C. F. Walker. 2002. "Methane emission from dairy cows and wether sheep fed subtropical grass-dominant pastures in midsummer in New Zealand." *New Zealand Journal of Agricultural Research* 45(4):227-34.
- Van Kessel, J.A.S. and J. B. Russell. 1996. The effect of pH on ruminal methanogenesis. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 20:205-221.
- Van Knegsel, A.T.M., Van den Brand, H., Dijkstra, J., Van Straalen, W.M., Heetkamp, M.J.W., Tamminga, S. and B. Kemp, 2007. Dietary energy source in dairy cows in early lactation: energy partitioning and milk composition. *J. Dairy Sci.*, 90, 1467-1476.
- Van Laar, H. and W.M. van Straalen, 2004. Ontwikkeling van een rantsoen voor melkvee dat de methaanproductie reduceert. *Schothorst Feed Research*
- Van Soest, P.J. 1982. Nutritional ecology of the ruminant: ruminant metabolism, nutritional strategies, the cellulolytic fermentation and the chemistry of forages and plant fibers. O And B Books, Corvallis, Oregon.

- Vlaming, J. B., N. Lopez-Villalobos, I. M. Brookes, S. O. Hoskin, and H. Clark. 2008. Within- and between-animal variance in methane emissions in non-lactating dairy cows. *Aust. J. Exp. Agric.*, 48:124-127.
- Weimer, P.J., G.C Waghorn., C.L Odt., and D.R. Mertens, 1999. Effect of diet on populations of three species of ruminal cellulolytic bacteria in lactating dairy cows. *J. Of D. Sci.* 82: 122-134.
- West, J. B. 2004. The physiologic basis of high-altitude diseases. *Ann. Intern. Med.*, 141: 789-800.
- Williams, Y. J., L. Klein, and A. D. G. Wright. 2007. A protocol for the operation of open-circuit chambers for measuring methane output in sheep. In: H. P. S. Makkar and P. E. Vercoe, editors, *measuring methane production from ruminants*. Springer, Dordrecht, the Netherlands. p. 111–123.
- School, Portage La Prairie, Manitoba, Canada, December 9-10, 1997, 56.”
- Woese, C.R., Kandler, O., and Wheelis, M.L. 1990. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains archaea, bacteria, and eucarya. In: *proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*. 87: 4576-4579.
- Wright, A.D. G., Auckland, C.H., and Lynn, D.H. 2007. Molecular diversity of methanogens in feedlot cattle from Ontario and Prince Edward Island, Canada. *Applied and environmental microbiology*, 73: 4206-4210.
- Wright, A.D.G., A.J Williams., B Winder. C.T Christophersen., S.L Rodgers., and K.D. Smith, 2004. Molecular Diversity of Rumen Methanogens from Sheep in Western Australia. *Applied and Environmental Microbiology*, 70: 1263.
- Wright, A.D.G and Klieve, A.V. 2011. Does The Complexity Of the rumen microbial ecology preclude methane mitigation, animal feed science and technology, 166-167: 248-253.
- Yan, T., R. E. Agnew, F. J. Gordon and M. G. Porter. 2000. The prediction of methane energy output in dairy and beef cattle offered grass silage-based diets. *Livest. Prod. Sci.* 64:253-263.
- Yu, Z., And Morrison, M. 2004. Comparisons of different hypervariable regions of rrs genes for use in fingerprinting of microbial communities by pcr-

denaturing gradient gel electrophoresis. Applied and environmental microbiology. 70: 4800-4806.

Yusuf, R. O., Z. A. Noor, A. H. Abba, M. A. A. Hassan, and M. F. M. Dinb. 2012. Methane emission by sectors: A comprehensive review of emission sources and mitigation methods. Renew. Sustain. Energy Rev., 16:5059-5070.

Zhou, M., Hernandez-Sanabria, E., and Guan, L.L. 2010. Characterization of variation in rumen methanogen communities under different dietary and host feed efficiency conditions, as determined by pcr-denaturing gradient gel electrophoresis analysis. Applied and environmental microbiology. 76: 3776- 3786





ANEXO 1. TABLAS

TABLA A1. Vacas Lecheras Del Grupo Experimental Alimentadas Con Forraje Entero Con Suplementación De Concentrado Fibroso

Tabla A2a. Vacas lecheras del grupo experimental alimentadas con forrajes enteros con suplementación de concentrado fibroso

| Vaca | Arete | Pesos, Kg | | | Ganancia | | Peso | Producción de leche, Kg/d | | | | | | | | | | Requerimiento ENL inicial, Mcal/día | | | | Requerimiento ENL final, Mcal/día | | | | | G+L | IMS |
|----------|-------|-----------|-------|-------|----------|-----------|-------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|----------|-----------|---------------|-------------------------------------|-------|----------|--------|-----------------------------------|-------|----------|--------|--------|--------|--------|
| | | Inic. | Final | Kg | Kg/d | \bar{x} | | Inic. | Grasa | LCG | Final | Ganan | Grasa | LCG | Grasa, g | \bar{x} | \bar{x} LCG | Inc. | Mant. | Act.Fís. | Prod. | Total | Mant. | Act.Fís. | Ganc. | Prod. | | |
| 1 | 607 | 370 | 458 | 88 | 1.19 | 414.0 | 10.9 | 4.49 | 11.70 | 11.4 | 0.5 | 4.32 | 11.95 | 0.478 | 9.62 | 11.82 | 0.25 | 8.099 | 0.405 | 8.764 | 17.268 | 9.504 | 0.475 | 6.541 | 8.948 | 25.469 | 15.489 | 19.486 |
| 2 | 543 | 465 | 510 | 45 | 0.61 | 487.5 | 12.2 | 4.54 | 13.19 | 12.2 | 0.0 | 4.30 | 12.75 | 0.510 | 10.53 | 12.97 | -0.44 | 9.613 | 0.481 | 9.878 | 19.972 | 10.303 | 0.515 | 3.345 | 9.549 | 23.711 | 12.894 | 18.142 |
| 3 | 468 | 475 | 520 | 45 | 0.61 | 497.5 | 14.4 | 4.61 | 15.72 | 15.1 | 0.7 | 4.48 | 16.19 | 0.647 | 12.46 | 15.95 | 0.47 | 9.768 | 0.488 | 11.772 | 22.029 | 10.454 | 0.523 | 3.345 | 12.124 | 26.445 | 15.469 | 20.234 |
| 4 | 489 | 535 | 597 | 62 | 0.84 | 566.0 | 8.1 | 4.47 | 8.67 | 9.9 | 1.8 | 4.28 | 10.32 | 0.413 | 7.79 | 9.49 | 1.64 | 10.679 | 0.534 | 6.495 | 17.708 | 11.594 | 0.580 | 4.608 | 7.727 | 24.509 | 12.335 | 18.752 |
| 5 | Liset | 525 | 592 | 67 | 0.91 | 558.5 | 8.5 | 4.83 | 9.56 | 9.3 | 0.8 | 4.58 | 10.11 | 0.404 | 8.05 | 9.83 | 0.55 | 10.529 | 0.526 | 7.159 | 18.215 | 11.522 | 0.576 | 4.980 | 7.572 | 24.649 | 12.551 | 18.859 |
| 6 | 510 | 525 | 598 | 73 | 0.99 | 561.5 | 7.8 | 4.38 | 8.24 | 9.4 | 1.6 | 4.22 | 9.71 | 0.388 | 7.46 | 8.98 | 1.47 | 10.529 | 0.526 | 6.175 | 17.231 | 11.609 | 0.580 | 5.426 | 7.273 | 24.888 | 12.699 | 19.042 |
| 7 | 524 | 540 | 616 | 76 | 1.03 | 578.0 | 11.2 | 4.69 | 12.36 | 11.5 | 0.3 | 4.55 | 12.45 | 0.498 | 9.94 | 12.40 | 0.09 | 10.754 | 0.538 | 9.257 | 20.549 | 11.870 | 0.594 | 5.649 | 9.324 | 27.436 | 14.973 | 20.992 |
| 8 | 564 | 430 | 499 | 69 | 0.93 | 464.5 | 10.0 | 4.53 | 10.80 | 11.4 | 1.4 | 4.10 | 11.57 | 0.463 | 9.18 | 11.18 | 0.78 | 9.065 | 0.453 | 8.085 | 17.604 | 10.136 | 0.507 | 5.128 | 8.667 | 24.437 | 13.795 | 18.697 |
| 9 | 599 | 475 | 552 | 77 | 1.04 | 513.5 | 10.6 | 4.49 | 11.38 | 11.7 | 1.1 | 4.38 | 12.37 | 0.495 | 9.54 | 11.87 | 0.99 | 9.768 | 0.488 | 8.523 | 18.779 | 10.933 | 0.547 | 5.723 | 9.263 | 26.465 | 14.986 | 20.249 |
| 10 | 466 | 530 | 575 | 45 | 0.61 | 552.5 | 17.5 | 4.61 | 19.10 | 18.2 | 0.7 | 4.49 | 19.54 | 0.782 | 14.85 | 19.32 | 0.44 | 10.604 | 0.530 | 14.307 | 25.441 | 11.273 | 0.564 | 3.345 | 14.634 | 29.815 | 17.978 | 22.811 |
| 11 | 528 | 550 | 628 | 78 | 1.05 | 589.0 | 8.6 | 4.54 | 9.30 | 10.1 | 1.5 | 4.42 | 10.74 | 0.429 | 8.13 | 10.02 | 1.44 | 10.903 | 0.545 | 6.963 | 18.411 | 12.043 | 0.602 | 5.797 | 8.041 | 26.484 | 13.839 | 20.263 |
| 12 | 395 | 580 | 643 | 63 | 0.85 | 611.5 | 13.2 | 4.61 | 14.41 | 15.2 | 2.0 | 4.52 | 16.39 | 0.655 | 11.85 | 15.40 | 1.98 | 11.346 | 0.567 | 10.791 | 22.705 | 12.258 | 0.613 | 4.682 | 12.273 | 29.826 | 16.955 | 22.821 |
| Prom. | | 500.0 | 565.7 | 65.67 | 0.887 | 532.8 | 11.08 | 4.566 | 12.03 | 12.12 | 1.03 | 4.387 | 12.839 | 0.514 | 9.95 | 12.44 | 0.804 | 10.138 | 0.507 | 9.014 | 19.659 | 11.125 | 0.556 | 4.881 | 9.616 | 26.178 | 14.497 | 20.029 |
| Des.Est. | | 58.9 | 57.7 | 14.32 | 0.193 | 57.9 | 2.89 | 0.116 | 3.190 | 2.7 | 0.6 | 0.146 | 3.007 | 0.120 | 2.19 | 3.08 | 0.716 | 0.909 | 0.045 | 2.389 | 2.581 | 0.857 | 0.043 | 1.064 | 2.252 | 2.017 | 1.803 | 1.544 |
| CV, % | | 11.8 | 10.2 | 21.8 | 21.8 | 10.9 | 26.1 | 2.5 | 26.5 | 22.4 | 61.0 | 3.3 | 23.4 | 23.4 | 22.1 | 24.8 | 89.1 | 9.0 | 9.0 | 26.5 | 13.1 | 7.7 | 7.7 | 21.8 | 23.4 | 7.7 | 12.4 | 7.7 |

Cálculo de los requerimientos energéticos de las vacas (Método factorial):, Mantenimiento: $ENL_M, \text{Kcal/día} = 80 \text{ Kcal/W}_{\text{Kg}}^{0.75}$ (NRC, 1989), Actividad física: $ENL_{AF}, \text{Kcal/d} = 1.2 \text{ Kcal} \times h \times W_{\text{Kg}}^{0.75}$ (Rochinotti (1998), Ganancia de peso: $ENL_G, \text{Kcal/d} = 0.20 \times 80 \text{ Kcal/W}_{\text{Kg}}^{0.75}$ (NRC, 1989), Producción de leche: $ENL_P, \text{Kcal/d} = 749 \text{ Kcal} \times 10 \text{ Kg LCG} \text{ 4\% (NRC, 1989), ENL = energía neta de lactación; h = horas; W = peso corporal; LCG = leche corregida al 4\% de grasa.}$

TABLA A2. Vacas Lecheras Del Grupo Experimental Alimentadas Con Forraje Entero Sin Suplementación De Concentrado Fibroso

Tabla A2b. Vacas lecheras del grupo control alimentadas con forrajes enteros sin suplementación de concentrado fibroso

| Vaca | Arete | Pesos, Kg | | Ganancia | | Peso | Prod. Leche, Kg/d | | | | | | | | | | Requerimiento inicial de ENL, Mcal/día | | | | Requerimiento final de ENL, Mcal/día | | | | IMS | | | |
|----------|-------|-----------|-------|----------|-------|-------|-------------------|-------|-----------|-------|--------|-------|--------|-------|-------|-------|--|-----------|---------------|--------|--------------------------------------|----------|-------|-------|--------|--------|----------|--------|
| | | N° | N° | Inc. | Finl. | | Kg | Kg/d | \bar{x} | Inc. | Grasa | LCG | Final | Ganan | Grasa | LCG | Grasa, g | \bar{x} | \bar{x} LCG | Inc. | Mant. | Act.Fís. | Prod. | Total | | Mant. | Act.Fís. | Ganc. |
| 1 | 439 | 425 | 462 | 37 | 0.50 | 443.5 | 11.5 | 4.57 | 12.48 | 10.5 | -1.0 | 4.54 | 11.35 | 0.454 | 9.76 | 11.92 | -1.13 | 8.986 | 0.449 | 9.350 | 18.785 | 9.566 | 0.478 | 2.750 | 8.502 | 21.296 | 11.252 | 16.300 |
| 2 | 454 | 450 | 490 | 40 | 0.54 | 470.0 | 12.0 | 4.79 | 13.42 | 11.6 | -0.4 | 4.68 | 12.78 | 0.511 | 10.45 | 13.10 | -0.64 | 9.380 | 0.469 | 10.053 | 19.902 | 9.998 | 0.500 | 2.973 | 9.575 | 23.046 | 12.548 | 17.639 |
| 3 | 561 | 515 | 508 | -7 | -0.09 | 511.5 | 16.8 | 4.75 | 18.69 | 15.7 | -1.1 | 4.65 | 17.28 | 0.691 | 14.00 | 17.98 | -1.41 | 10.378 | 0.519 | 13.999 | 24.896 | 10.272 | 0.514 | -0.52 | 12.940 | 23.206 | 12.420 | 17.762 |
| 4 | 369 | 480 | 543 | 63 | 0.85 | 511.5 | 8.3 | 4.44 | 8.85 | 9.5 | 1.2 | 4.4 | 10.07 | 0.403 | 7.77 | 9.46 | 1.22 | 9.845 | 0.492 | 6.627 | 16.964 | 10.799 | 0.540 | 4.682 | 7.542 | 23.563 | 12.225 | 18.036 |
| 5 | 565 | 465 | 500 | 35 | 0.47 | 482.5 | 9.3 | 4.85 | 10.49 | 9.0 | -0.3 | 4.68 | 9.92 | 0.397 | 8.41 | 10.20 | -0.57 | 9.613 | 0.481 | 7.854 | 17.948 | 10.151 | 0.508 | 2.601 | 7.429 | 20.688 | 10.030 | 15.835 |
| 6 | 573 | 550 | 611 | 61 | 0.82 | 580.5 | 6.5 | 4.58 | 7.07 | 6.0 | -0.5 | 4.53 | 6.48 | 0.259 | 6.04 | 6.77 | -0.59 | 10.903 | 0.545 | 5.292 | 16.740 | 11.798 | 0.590 | 4.534 | 4.851 | 21.773 | 9.385 | 16.665 |
| 7 | 475 | 525 | 555 | 30 | 0.41 | 540.0 | 14.5 | 4.73 | 16.09 | 14.1 | -0.4 | 4.58 | 15.33 | 0.613 | 12.35 | 15.71 | -0.76 | 10.529 | 0.526 | 12.050 | 23.105 | 10.977 | 0.549 | 2.230 | 11.480 | 25.235 | 13.709 | 19.315 |
| 8 | 550 | 478 | 518 | 40 | 0.54 | 498.0 | 10.4 | 4.65 | 11.41 | 9.5 | -0.9 | 4.55 | 10.28 | 0.411 | 8.99 | 10.85 | -1.13 | 9.814 | 0.491 | 8.549 | 18.854 | 10.424 | 0.521 | 2.973 | 7.703 | 21.620 | 10.676 | 16.548 |
| 9 | 460 | 470 | 498 | 28 | 0.38 | 484.0 | 10.7 | 4.75 | 11.90 | 10.1 | -0.6 | 4.58 | 10.98 | 0.439 | 9.36 | 11.44 | -0.93 | 9.690 | 0.485 | 8.916 | 19.091 | 10.120 | 0.506 | 2.081 | 8.223 | 20.930 | 10.304 | 16.020 |
| 10 | 478 | 510 | 522 | 12 | 0.16 | 516.0 | 17.5 | 4.57 | 19.00 | 15.1 | -2.4 | 4.4 | 16.01 | 0.640 | 14.04 | 17.50 | -2.99 | 10.303 | 0.515 | 14.228 | 25.046 | 10.484 | 0.524 | 0.892 | 11.988 | 23.889 | 12.880 | 18.284 |
| 11 | Mery | 560 | 602 | 42 | 0.57 | 581.0 | 8.4 | 4.79 | 9.40 | 9.6 | 1.2 | 4.68 | 10.58 | 0.423 | 8.05 | 9.99 | 1.18 | 11.051 | 0.553 | 7.037 | 18.641 | 11.667 | 0.583 | 3.122 | 7.924 | 23.296 | 11.045 | 17.831 |
| 12 | 447 | 570 | 614 | 44 | 0.59 | 592.0 | 10.1 | 4.75 | 11.24 | 10.2 | 0.1 | 4.59 | 11.10 | 0.444 | 9.07 | 11.17 | -0.13 | 11.199 | 0.560 | 8.416 | 20.175 | 11.841 | 0.592 | 3.270 | 8.316 | 24.020 | 11.586 | 18.385 |
| Prom. | | 499.8 | 535.3 | 35.4 | 0.479 | 517.5 | 11.33 | 4.685 | 12.502 | 10.91 | -0.42 | 4.572 | 11.846 | 0.474 | 9.86 | 12.17 | -0.65 | 10.141 | 0.507 | 9.364 | 20.012 | 10.675 | 0.534 | 2.632 | 8.873 | 22.714 | 11.505 | 17.385 |
| Des.Est. | | 45.8 | 50.5 | 19.1 | 0.258 | 47.3 | 3.39 | 0.122 | 3.741 | 2.80 | 1.0 | 0.097 | 3.031 | 0.121 | 2.47 | 3.36 | 1.118 | 0.698 | 0.035 | 2.802 | 2.839 | 0.753 | 0.038 | 1.419 | 2.271 | 1.422 | 1.289 | 1.088 |
| CV, % | | 9.2 | 9.4 | 53.9 | 53.9 | 9.1 | 29.9 | 2.6 | 29.9 | 25.7 | -231.4 | 2.1 | 25.6 | 25.6 | 25.1 | 27.6 | -170. | 6.9 | 6.9 | 29.9 | 14.2 | 7.1 | 7.1 | 53.9 | 25.6 | 6.3 | 11.2 | 6.3 |

Cálculo de los requerimientos energéticos de las vacas (Método factorial):, Mantenimiento: $ENL_M, Kcal/día = 80 Kcal/W_{Kg}^{0.75}$ (NRC, 1989), Actividad física: $ENL_{AF}, Kcal/d = 1.2 Kcal \times h \times W_{Kg}^{0.75}$ (Rochinotti (1998), Ganancia de peso: $ENL_G, Kcal/d = 0.20 \times 80 Kcal/W_{Kg}^{0.75}$ (NRC, 1989), Producción de leche: $ENL_P, Kcal/d = 749 Kcal \times 10 Kg LCG 4\%$ (NRC, 1989), ENL = energía neta de lactación; h = horas; W = peso corporal; LCG = leche corregida al 4% de grasa.



TABLA A3. Estimado de las emisiones de metano entérico (CH₄) en Vacas Lecheras Del Grupo Experimental Alimentadas Con Forraje Entero y Suplementación De Concentrado Fibroso

| Vaca | Arete | IMS | IEB | Estimado de las emisiones de metano entérico (CH ₄) | | | | | | | | | |
|---------|-------|--------|---------|---|--------|--------|------|-----------------------------|-----------------------|---------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| N° | N° | Kg/d | Mcal/d | MJ/d | Mcal/d | Mol/d | %EB | Mol CH ₄ /Kg LCG | gCH ₄ /día | L/d | g CH ₄ /kg leche | gCH ₄ /kg IMS | gCH ₄ /Kg LCG |
| 1 | 607 | 19.486 | 88.273 | 20.103 | 4.805 | 22.557 | 5.44 | 1.89 | 360.91 | 932.79 | 31.66 | 18.52 | 30.21 |
| 2 | 543 | 18.142 | 82.183 | 19.033 | 4.549 | 21.356 | 5.54 | 1.68 | 341.70 | 883.13 | 28.01 | 18.84 | 26.80 |
| 3 | 468 | 20.234 | 91.658 | 20.698 | 4.947 | 23.225 | 5.40 | 1.43 | 371.59 | 960.39 | 24.61 | 18.37 | 22.96 |
| 4 | 489 | 18.752 | 84.947 | 19.518 | 4.665 | 21.901 | 5.49 | 2.12 | 350.42 | 905.67 | 35.40 | 18.69 | 33.97 |
| 5 | Liset | 18.859 | 85.433 | 19.604 | 4.685 | 21.997 | 5.48 | 2.18 | 351.96 | 909.63 | 37.84 | 18.66 | 34.82 |
| 6 | 510 | 19.042 | 86.261 | 19.749 | 4.720 | 22.161 | 5.47 | 2.28 | 354.57 | 916.38 | 37.72 | 18.62 | 36.52 |
| 7 | 524 | 20.992 | 95.093 | 21.301 | 5.091 | 23.902 | 5.35 | 1.92 | 382.43 | 988.40 | 33.25 | 18.22 | 30.72 |
| 8 | 564 | 18.697 | 84.699 | 19.475 | 4.655 | 21.852 | 5.50 | 1.89 | 349.64 | 903.65 | 30.67 | 18.70 | 30.22 |
| 9 | 599 | 20.249 | 91.727 | 20.710 | 4.950 | 23.238 | 5.40 | 1.88 | 371.81 | 960.95 | 31.78 | 18.36 | 30.07 |
| 10 | 466 | 22.811 | 103.336 | 22.750 | 5.437 | 25.527 | 5.26 | 1.31 | 408.43 | 1055.60 | 22.44 | 17.90 | 20.90 |
| 11 | 528 | 20.263 | 91.793 | 20.721 | 4.953 | 23.251 | 5.40 | 2.17 | 372.02 | 961.49 | 36.83 | 18.36 | 34.65 |
| 12 | 395 | 22.821 | 103.377 | 22.757 | 5.439 | 25.535 | 5.26 | 1.56 | 408.56 | 1055.94 | 26.88 | 17.90 | 24.93 |
| Prom. | | 20.029 | 90.731 | 20.535 | 4.908 | 23.042 | 5.42 | 1.858 | 368.67 | 952.83 | 31.42 | 18.43 | 29.73 |
| Des.Est | | 1.544 | 6.992 | 1.229 | 0.294 | 1.379 | 0.09 | 0.31 | 22.06 | 57.01 | 5.13 | 0.30 | 4.96 |
| CV, % | | 7.7 | 7.7 | 6.0 | 6.0 | 6.0 | 1.6 | 16.7 | 5.98 | 5.98 | 16.32 | 1.65 | 16.69 |

Cálculo de los requerimientos energéticos de las vacas (Método factorial):

Mantenimiento: ENL_M, Kcal/día = 96 W_{Kg}^{0.75} (Ellis et al., 2006).

Actividad física: ENL_{AF}, Kcal/d = 1.2 Kcal × h × W_{Kg}^{0.75} (Rochinotti (1998)

Crecimiento y/o ganancia de peso: ENL_{C/G}, Mcal/d = 5.5 Mcal/Kg de ganancia de peso vivo (NRC, 2001).

Producción de leche: ENL_P, Kcal/d = 749 Kcal × 10 Kg LCG 4% (NRC, 1989)

ENL = energía neta de lactación; h = horas; W = peso corporal; LCG = leche corregida al 4% de grasa.

Emisión de metano (CH₄) entérico (MJ/d) = 0.796 × IMS (Kg/d) + 0.157 × FDN (%MS) - 0.219 × EE (%MS) - 1.285 (Morales et al., 2014)

IMS = ingestión de materia seca; IEB = ingestión energía bruta (4.53 Mcal/Kg MS, tratamiento; 4.56 Mcal/Kg MS, control)



TABLA A4. Estimado de las emisiones de metano entérico (CH₄) en Vacas Lecheras Del Grupo Experimental Alimentadas Con Forraje Entero sin Suplementación De Concentrado Fibroso

| Vaca | Arete | IMS | IEB | Emisiones de metano entérico (CH ₄) | | | | | | | | | gCH ₄ /Kg LCG |
|----------|-------|--------|--------|---|-------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|--------------------------|--------------------------|
| | | | | N° | N° | Kg/d | Mcal/d | MJ/d | Mcal/d | Mol/d | %EB | Mol CH ₄ /LCG | |
| 1 | 439 | 16.300 | 73.840 | 17.253 | 4.124 | 19.359 | 5.58 | 1.71 | 309.75 | 800.55 | 29.50 | 19.00 | 27.29 |
| 2 | 454 | 17.639 | 79.906 | 18.319 | 4.378 | 20.555 | 5.48 | 1.61 | 328.88 | 850.00 | 28.35 | 18.64 | 25.73 |
| 3 | 561 | 17.762 | 80.461 | 18.416 | 4.402 | 20.665 | 5.47 | 1.20 | 330.64 | 854.53 | 21.00 | 18.61 | 19.14 |
| 4 | 369 | 18.036 | 81.701 | 18.634 | 4.454 | 20.909 | 5.45 | 2.08 | 334.55 | 864.64 | 35.22 | 18.55 | 33.22 |
| 5 | 565 | 15.835 | 71.732 | 16.882 | 4.035 | 18.944 | 5.63 | 1.91 | 303.10 | 783.36 | 33.68 | 19.14 | 30.56 |
| 6 | 573 | 16.665 | 75.492 | 17.543 | 4.193 | 19.685 | 5.55 | 3.04 | 314.96 | 814.02 | 52.49 | 18.90 | 48.63 |
| 7 | 475 | 19.315 | 87.498 | 19.653 | 4.697 | 22.052 | 5.37 | 1.44 | 352.84 | 911.91 | 25.02 | 18.27 | 23.02 |
| 8 | 550 | 16.548 | 74.964 | 17.450 | 4.171 | 19.581 | 5.56 | 1.90 | 313.29 | 809.71 | 32.98 | 18.93 | 30.46 |
| 9 | 460 | 16.020 | 72.572 | 17.030 | 4.070 | 19.109 | 5.61 | 1.74 | 305.75 | 790.20 | 30.27 | 19.08 | 27.85 |
| 10 | 478 | 18.284 | 82.828 | 18.832 | 4.501 | 21.131 | 5.43 | 1.32 | 338.10 | 873.83 | 22.39 | 18.49 | 21.12 |
| 11 | Mery | 17.831 | 80.774 | 18.471 | 4.415 | 20.726 | 5.47 | 1.96 | 331.62 | 857.08 | 34.54 | 18.60 | 31.35 |
| 12 | 447 | 18.385 | 83.282 | 18.912 | 4.520 | 21.221 | 5.43 | 1.91 | 339.54 | 877.53 | 33.29 | 18.47 | 30.58 |
| Prom. | | 17.385 | 78.754 | 18.116 | 4.330 | 20.328 | 5.503 | 1.817 | 325.25 | 840.61 | 31.56 | 18.72 | 29.08 |
| Des.Est. | | 1.088 | 4.929 | 0.866 | 0.207 | 0.972 | 0.08 | 0.471 | 15.55 | 40.19 | 8.11 | 0.28 | 7.54 |
| CV, % | | 6.3 | 6.3 | 4.8 | 4.8 | 4.8 | 1.5 | 25.9 | 4.78 | 4.78 | 25.71 | 1.48 | 25.93 |

Cálculo de los requerimientos energéticos de las vacas (Método factorial):

Mantenimiento: $ENL_M, \text{Kcal/día} = 96 W_{Kg}^{0.75}$ (Ellis et al., 2006).

Actividad física: $ENL_{AF}, \text{Kcal/d} = 1.2 \text{Kcal} \times h \times W_{Kg}^{0.75}$ (Rochinotti (1998)

Crecimiento y/o ganancia de peso: $ENL_{C/G}, \text{Mcal/d} = 5.5 \text{Mcal/Kg}$ de ganancia de peso vivo (NRC, 2001).

Producción de leche: $ENL_P, \text{Kcal/d} = 749 \text{Kcal} \times 10 \text{Kg LCG} 4\%$ (NRC, 1989)

ENL = energía neta de lactación; h = horas; W = peso corporal; LCG = leche corregida al 4% de grasa.

Emisión de metano (CH₄) entérico (MJ/d) = $0.796 \times \text{IMS (Kg/d)} + 0.157 \times \text{FDN (\%MS)} - 0.219 \times \text{EE (\%MS)} - 1.285$ (Moraes et al., 2014)

IMS = ingestión de materia seca; IEB = ingestión energía bruta (4.53 Mcal/Kg MS, tratamiento; 4.56 Mcal/Kg MS, control)

ANEXO A5. Medición de metano entérico con gaset DX 3040 a Vacas Lecheras Del Grupo Experimental Alimentadas Con Forraje Entero con Suplementación

| emisión de metano entérico (CH4) en vacas lecheras suplementadas con concentrado fibroso | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--------|-----------------------------------|-------|---------------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|---|----------------------------|--------------------------|--|-----------------------------|-------|-------------------------|---------------------------|
| N° arete | ppm | CH ₄ g día base húmeda | H° | CH ₄ g día base seca | CH ₄ v L/d | CH ₄ de kg/año | CH ₄ Mol/d | CO ₂ e CH ₄ Mol/d | CH ₄ g/kg leche | CH ₄ g/kg IMS | CO ₂ e CH ₄ g/kg IMS | Mol CH ₄ /Kg LCG | RE | mol CH ₄ /RE | CH ₄ L/RE Mcal |
| 607 | 145.93 | 297.26 | 0.33 | 298.26 | 694.33 | 108.86 | 18.59 | 464.79 | 26.16 | 15.31 | 382.65 | 1.56 | 15.49 | 1.20 | 44.83 |
| 543 | 148.18 | 301.83 | 0.22 | 302.50 | 704.20 | 110.41 | 18.86 | 471.40 | 24.79 | 16.67 | 416.85 | 1.48 | 12.89 | 1.46 | 54.62 |
| 468 | 150.49 | 306.54 | 0.32 | 307.53 | 715.92 | 112.25 | 19.17 | 479.24 | 20.37 | 15.20 | 379.98 | 1.18 | 15.47 | 1.24 | 46.28 |
| 489 | 156.49 | 318.75 | 0.28 | 319.64 | 744.11 | 116.67 | 19.92 | 498.12 | 32.29 | 17.05 | 426.15 | 1.93 | 12.33 | 1.62 | 60.33 |
| Liset | 145.28 | 295.93 | 0.23 | 296.61 | 690.49 | 108.26 | 18.49 | 462.22 | 31.89 | 15.73 | 393.19 | 1.83 | 12.55 | 1.47 | 55.01 |
| 510 | 152.53 | 310.69 | 0.34 | 311.75 | 725.75 | 113.79 | 19.43 | 485.83 | 33.17 | 16.37 | 409.29 | 2.00 | 12.70 | 1.53 | 57.15 |
| 524 | 153.58 | 312.83 | 0.33 | 313.87 | 730.67 | 114.56 | 19.56 | 489.12 | 27.29 | 14.95 | 373.80 | 1.57 | 14.97 | 1.31 | 48.80 |
| 564 | 150.58 | 306.73 | 0.31 | 307.68 | 716.27 | 112.30 | 19.18 | 479.48 | 26.99 | 16.46 | 411.40 | 1.66 | 13.80 | 1.39 | 51.92 |
| 599 | 149.20 | 303.91 | 0.30 | 304.82 | 709.61 | 111.26 | 19.00 | 475.02 | 26.05 | 15.05 | 376.35 | 1.54 | 14.99 | 1.27 | 47.35 |
| 466 | 160.77 | 327.47 | 0.25 | 328.29 | 764.24 | 119.82 | 20.46 | 511.59 | 18.04 | 14.39 | 359.78 | 1.05 | 17.98 | 1.14 | 42.51 |
| 528 | 163.04 | 332.10 | 0.36 | 333.29 | 775.88 | 121.65 | 20.78 | 519.39 | 33.00 | 16.45 | 411.20 | 1.94 | 13.84 | 1.50 | 56.07 |
| 395 | 153.72 | 313.12 | 0.14 | 313.56 | 729.95 | 114.45 | 19.55 | 488.64 | 20.63 | 13.74 | 343.50 | 1.19 | 16.96 | 1.15 | 43.05 |
| promedio | 152.48 | 310.60 | 0.28 | 311.48 | 725.12 | 113.69 | 19.42 | 485.40 | 26.72 | 15.61 | 390.34 | 1.58 | 14.50 | 1.36 | 50.66 |
| desv estan | 5.48 | 11.17 | 0.06 | 11.22 | 26.13 | 4.10 | 0.70 | 17.49 | 5.19 | 1.01 | 25.22 | 0.32 | 1.80 | 0.16 | 5.98 |
| cof var | 3.59 | 3.59 | 22.52 | 3.60 | 3.60 | 3.60 | 3.60 | 3.60 | 19.43 | 6.46 | 6.46 | 20.04 | 12.44 | 11.80 | 11.80 |

* Concentración relativa registrada con Gaset DX-4030, a los 10 minutos de encierro a la vaca en cámara de respiración. (ppm); partes por millón

$Ph = P \times [(288 - 6.5h)/288]^{5.2558}$; (h = altitud en km es 3. 815 m.s.n.m). Ph= 473.5 mmHg (Beychok 2005).

$CH_4 \text{ mg/m}^3 = Ph \cdot M \cdot ppm / RT$; (Donde: M = peso molecular de metano (g/mol), ppmv = concentración relativa de metano en volumen, R = constante de los gases ideales (62.4 mmHg*L/mol, T = temperatura (273.15 + 10.24 °C) T=283.3875 °K , Ph = presión del aire a gran altitud (mm Hg).Peso molecular del metano: CH₄ = 16.04246 g/mol (EPA, 2015).

$C''\text{Base seca} = C''\text{Base húmeda} / ((1-W))$ donde :C = concentración de metano en el aire (mg/m³), W = humedad (fracción de 1).(Beychok 2005).

Volumen de CH₄ en litros = $((R \cdot T) / P) \cdot (m / M)$ donde; P= presión atmosférica (lugar de trabajo), en mm de Hg, V =Volumen que ocupa el gas metano, en litros, m = masa, mmHg = milímetro de mercurio, °C= centígrados, °K= kelvin, g= gramos, kg= kilogramo, v= volumen, L= litros, d= día.(Chang et al 2012). h = horas; W = peso corporal; LCG = leche corregida al 4% de grasa.

IMS = ingestión de materia seca. RE= energía retenida (ganancia de peso diario*5.5+LCG*0.749).



ANEXO A6. Medición de metano entérico con gaset DX 3040 a Vacas Lecheras Del Grupo Experimental Alimentadas Con Forraje Entero Sin Suplementación De Concentrado Fibroso

emisión de metano entérico (CH4) en vacas lecheras sin suplementado con concentrado fibroso

| N° de arete | ppm | CH ₄ g día base húmeda | H° | CH ₄ g día base seca | CH ₄ v L/d | CH ₄ de kg/año | CH ₄ Mol/d | CO ₂ e Mol/d | CH ₄ g/kg leche | CH ₄ g/kg IMS | CO ₂ e CH ₄ g/kg IMS | Mol CH ₄ /Kg LCG | RE | mol CH ₄ /RE | L CH ₄ /RE |
|-------------|--------|-----------------------------------|-------|---------------------------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|-------------------------|----------------------------|--------------------------|--|-----------------------------|-------|-------------------------|-----------------------|
| 369 | 173.16 | 353.14 | 0.15 | 353.69 | 823.37 | 129.10 | 22.05 | 551.18 | 37.23 | 19.61 | 490.27 | 2.19 | 11.25 | 1.96 | 73.18 |
| 550 | 175.22 | 357.34 | 0.43 | 358.89 | 835.49 | 131.00 | 22.37 | 559.29 | 37.78 | 21.69 | 542.19 | 2.18 | 12.55 | 1.78 | 66.59 |
| 478 | 159.40 | 325.07 | 0.22 | 325.80 | 758.45 | 118.92 | 20.31 | 507.72 | 21.58 | 17.82 | 445.46 | 1.27 | 12.42 | 1.64 | 61.07 |
| Mery | 170.17 | 347.05 | 0.39 | 348.42 | 811.10 | 127.17 | 21.72 | 542.96 | 36.29 | 19.54 | 488.51 | 2.05 | 12.22 | 1.78 | 66.35 |
| 447 | 175.07 | 357.04 | 0.34 | 358.26 | 834.01 | 130.76 | 22.33 | 558.30 | 35.12 | 19.49 | 487.17 | 2.01 | 10.03 | 2.23 | 83.15 |
| 439 | 155.69 | 317.51 | 0.27 | 318.37 | 741.16 | 116.21 | 19.85 | 496.14 | 30.32 | 19.53 | 488.29 | 1.75 | 9.39 | 2.11 | 78.97 |
| 454 | 168.14 | 342.92 | 0.28 | 343.88 | 800.54 | 125.52 | 21.44 | 535.89 | 29.64 | 19.50 | 487.38 | 1.68 | 13.71 | 1.56 | 58.39 |
| 565 | 161.35 | 329.07 | 0.40 | 330.39 | 769.13 | 120.59 | 20.59 | 514.87 | 36.71 | 20.86 | 521.62 | 2.08 | 10.68 | 1.93 | 72.05 |
| 460 | 154.07 | 314.20 | 0.37 | 315.36 | 734.15 | 115.11 | 19.66 | 491.45 | 31.22 | 19.69 | 492.13 | 1.79 | 10.30 | 1.91 | 71.25 |
| 561 | 173.71 | 354.26 | 0.16 | 354.83 | 826.03 | 129.51 | 22.12 | 552.96 | 22.54 | 19.98 | 499.43 | 1.28 | 12.88 | 1.72 | 64.13 |
| 475 | 158.37 | 322.98 | 0.22 | 323.68 | 753.51 | 118.14 | 20.18 | 504.41 | 22.96 | 16.76 | 418.94 | 1.32 | 11.05 | 1.83 | 68.22 |
| 573 | 170.83 | 348.39 | 0.29 | 349.42 | 813.43 | 127.54 | 21.78 | 544.52 | 58.24 | 20.97 | 524.18 | 3.36 | 11.59 | 1.88 | 70.21 |
| promedio | 166.26 | 339.08 | 0.29 | 340.08 | 791.70 | 124.13 | 21.20 | 529.97 | 33.30 | 19.62 | 490.46 | 1.91 | 11.51 | 1.86 | 69.46 |
| desv estan | 7.95 | 16.21 | 0.09 | 16.26 | 37.85 | 5.93 | 1.01 | 25.34 | 9.85 | 1.32 | 33.08 | 0.57 | 1.29 | 0.19 | 7.03 |
| cof var | 4.78 | 4.78 | 31.83 | 4.78 | 4.78 | 4.78 | 4.78 | 4.78 | 29.59 | 6.74 | 6.74 | 29.80 | 11.20 | 10.11 | 10.11 |

* Concentración relativa registrada con Gasmeter DX-4030, a los 10 minutos de encierro a la vaca en cámara de respiración. (ppm); partes por millón

$Ph = P \times [(288 - 6.5h)/288]^{5.2558}$; (h = altitud en km es 3. 815 m.s.n.m). $Ph = 473.5$ mmHg (Beychok 2005).

$CH_4 \text{ mg/m}^3 = Ph \cdot M \cdot \text{ppm} / RT$; (Donde: M = peso molecular de metano (g/mol), ppmv = concentración relativa de metano en volumen, R = constante de los gases ideales (62.4 mmHg*L/mol, T = temperatura (273.15 + 10.24 °C) T=283.3875 °K , Ph = presión del aire a gran altitud (mm Hg).Peso molecular del metano: CH₄ = 16.04246 g/mol (EPA, 2015).

"C"Base seca" = "C"Base húmeda" / ((1-W)) donde :C = concentración de metano en el aire (mg/m³), W = humedad (fracción de 1).(Beychok 2005).

Volumen de CH₄ en litros = ((R*T)/P)(m/M) donde; P= presión atmosférica (lugar de trabajo), en mm de Hg, V =Volumen que ocupa el gas metano, en litros, m = masa, mmHg = milímetro de mercurio, °C= centígrados, °K= kelvin, g= gramos, kg= kilogramo, v= volumen, L= litros, d= día.(Chang et al 2012). h = horas; W = peso corporal; LCG = leche corregida al 4% de grasa. IMS = ingestión de materia seca. RE= energía retenida (ganancia de peso diario*5.5+LCG*0.749).

ANEXO. A7. Distribución de vacas para el experimento.

| Nº | Arete | Edad | Peso | Producción de leche | | Etapa | Nº | Arete | Edad | Peso | Producción de leche | |
|----------|-------|------|-------|---------------------|----------|-------|------|-------|--------|-------|---------------------|-------|
| | | | | Kg/d | Total | | | | | | Kg/d | Total |
| | vaca | Años | Kg | | Lact | | vaca | Años | Kg | | Total | Lact |
| 1 | 607 | 4 | 370 | 10.9 | Media | 1 | 439 | 6 | 480 | 8.3 | medi | |
| 2 | 543 | 5 | 465 | 12.2 | Media | 2 | 454 | 6 | 478 | 10.4 | medi | |
| 3 | 468 | 6 | 475 | 14.4 | Media | 3 | 561 | 4 | 510 | 17.5 | medi | |
| 4 | 489 | 5 | 535 | 8.1 | Final | 4 | 369 | 9 | 560 | 8.4 | final | |
| 5 | lizet | 6 | 525 | 8.5 | Final | 5 | 565 | 4 | 570 | 10.1 | final | |
| 6 | 510 | 5 | 525 | 7.8 | Final | 6 | 573 | 4 | 425 | 11.5 | final | |
| 7 | 524 | 5 | 540 | 11.2 | Media | 7 | 475 | 5 | 450 | 12 | medi | |
| 8 | 564 | 4 | 430 | 10 | Final | 8 | 550 | 4 | 465 | 9.3 | final | |
| 9 | 599 | 4 | 475 | 10.6 | Final | 9 | 460 | 6 | 470 | 10.7 | final | |
| 10 | 466 | 6 | 530 | 17.5 | Media | 10 | 478 | 5 | 515 | 16.8 | medi | |
| 11 | 528 | 5 | 550 | 8.6 | Final | 11 | Mery | 5 | 525 | 14.5 | final | |
| 12 | 395 | 9 | 580 | 13.2 | Media | 12 | 447 | 6 | 550 | 6.5 | medi | |
| Prom. | | 5.3 | 500.0 | 11.08 | promedio | | | 5.3 | 499.83 | 11.33 | | |
| D.E. | | 1.37 | 58.89 | 2.89 | desv est | | | 1.44 | 45.81 | 3.39 | | |
| CV, % | | 25.7 | 11.8 | 26.08 | CV,% | | | 26.9 | 9.16 | 29.92 | | |

ANEXO. A8. Composición química y energía bruta de los alimentos utilizados para la elaboración de concentrado fibroso. Estación Experimental ILLPA, INIA-Puno.

| Alimento | H° | PC | CT | EE | FDN | CNF | EB ¹ |
|----------------------------|------|----------------------|------|------|------|------|-----------------|
| | % | 100% de materia seca | | | | | Kcal/Kg MS |
| Heno de avena | 3.9 | 6.8 | 7.5 | 3.2 | 56.1 | 26.4 | 4441.6 |
| Heno de alfalfa + dactilis | 8.2 | 13.3 | 8.5 | 5.3 | 57.1 | 15.8 | 4636.9 |
| Grano de avena | 7.8 | 7.5 | 5.0 | 6.4 | 48.3 | 32.7 | 4674.9 |
| Broza de cañihua | 4.7 | 6.9 | 12.1 | 1.1 | 50.3 | 29.7 | 4098.2 |
| Ensilado de avena | 51.1 | 6.6 | 6.8 | 4.9 | 50.7 | 31.1 | 4520.3 |
| Alfalfa de rebrote | 70.6 | 22.4 | 10.3 | 5.7 | 32.3 | 29.3 | 4550.3 |
| Harina integral de soya | 4.4 | 38.5 | 5.2 | 19.7 | 25.0 | 11.6 | 5735.8 |
| Pasta de algodón | 3.9 | 27.9 | 4.8 | 15.9 | 38.7 | 12.6 | 5474.6 |
| Harina de pescado | 4.4 | 22.9 | 53.7 | 5.9 | 4.3 | 13.2 | 2607.8 |

Energía bruta estimada: $EB = 9.50 EE + 4.79 FDN + 5.72 PC + 4.03 CNF$ (Mertenz, 1997).

ANEXO 2. SECUENCIAS FOTOGRAFICAS

SECUENCIA FOTOGRAFICA 1. Instalaciones donde se realizó el estudio experimental en vacas lecheras de la Estación Experimental Agraria Illpa (INIA) – Puno, 2014.



Foto 1. Establo de la E.E.A. Illpa (INIA) ubicada en el Km 22 de la carretera Puno-Juliaca, a una altitud de 3815 msnm.



Foto 2. Establo donde pernoctaron las vacas lecheras durante todo el tiempo que duro el experimento

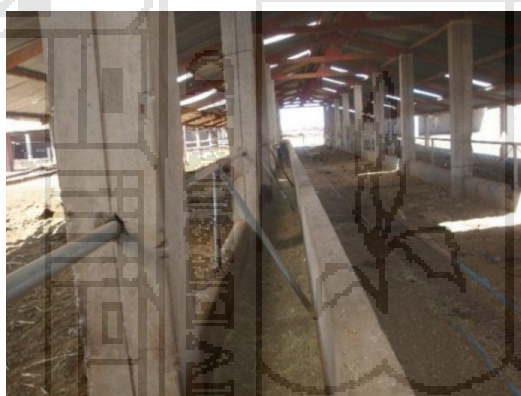


Foto 3. Comedero para el suministro de concentrado fibroso y heno de avena.



Foto 4. Sala de ordeño, donde las vacas ingresaron de 4 en 4 para el ordeño manual



Foto 5. Cámara de respiración para la medición de metano.



Foto 6. Cámara de respiración donde permaneces 10 minutos

SECUENCIA FOTOGRAFICA 2. Procesamiento forrajero y elaboración de concentrado fibroso para la alimentación de vacas lecheras: Estación Experimental Agraria Illpa (INIA). 2014.



Foto 1. Proceso mecánico de forrajes: molienda a un tamaño de partícula de 12 mm Ø.



Foto 2. Proceso mecánico de forraje: molienda de henos y brozas con molino accionado por tractor.

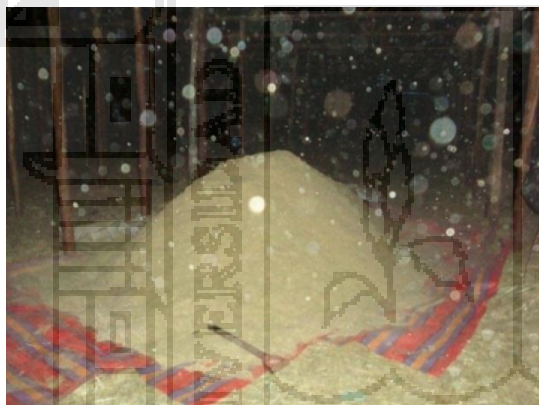


Foto 3. Adición de ingredientes del concentrado fibroso (henos, brozas y granos molidos), en orden de volumen



Foto 4. Mezclado manual con palas de los ingredientes del concentrado fibroso.

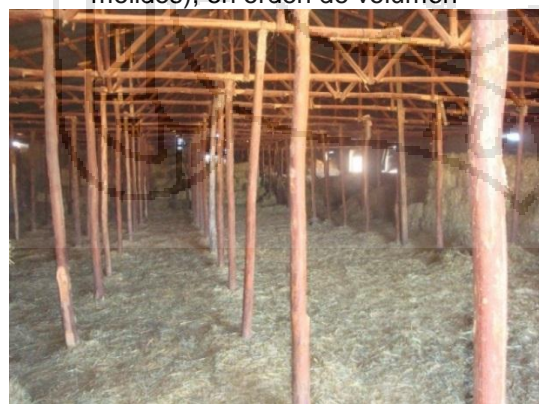


Foto 5. Almacén de forrajes de la Estación Experimental Agraria Illpa (INIA) puno.



Foto 6. Saqueado y pesado en sacos con (31 Kg) de peso del concentrado fibroso

SECUENCIA FOTOGRAFCA 3. Validación del concentrado fibroso en la alimentación de vacas lecheras: Estación Experimental Agraria Illpa (INIA). En los meses de Octubre – Diciembre 2014.

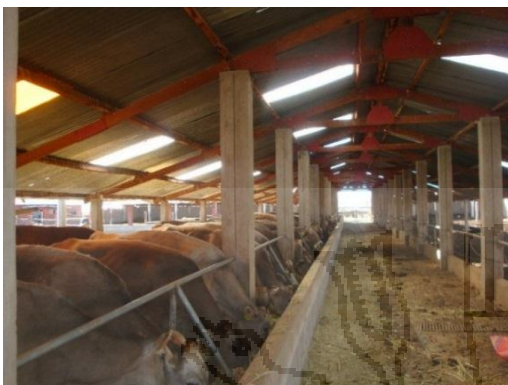


Foto 1. Suministro de concentrado fibroso a las vacas lecheras, después del ordeño, 6:00 a.m., 6 Kg/vaca/día.



Foto 2. Consumo de concentrado fibroso por las 12 vacas de grupo experimental.

SECUNCIA FOTOGRAFICA 4. Alimentación de vacas lecheras en sistema mixto (pastoreo y estabulación) en la Estación Experimental Agraria Illpa (INIA), 2014



Foto 1. Alimentación de vacas lecheras en pastos de alfalfa y dactilis. Durante el mes de (octubre).



Foto 2. Alimentación de vacas lecheras en pastos de alfalfa y dactilis. Durante el mes de (noviembre).



Foto 3. Alimentación de vacas lecheras en pastos de alfalfa y dactilis. Durante el mes de (noviembre).



Foto 4. Alimentación de vacas lecheras en pastos de alfalfa y dactilis. Durante el mes de (diciembre).



Foto 5. Consumo de heno de avena por las vacas lecheras durante (Octubre – Diciembre).



Foto 6. Consumo de ensilado de avena por las vacas lecheras durante (Octubre – Diciembre).

SECUNCIA FOTOGRAFICA 5. Determinación del consumo de alimento por día de las vacas lecheras en sistema mixto (pastoreo y estabulación) en la Estación Experimental Agraria Illpa (INIA), 2014



Foto 1. Traslado de heno de avena en una carreta jalada por tractor para el consumo de cada semana por las vacas lecheras en el establo



Foto 2. Pesado de los henos de avena que se destinan para la alimentación de las vacas lecheras con una romana de capacidad de 50 Kg.



Foto 3. Ensilado de avena: forraje suplementario para la alimentación de vacas lecheras en época seca.



Foto 4. Pesado del ensilado con una romana de 50 kg de capacidad



Foto 5. Suministro de ensilado de avena pesado en los comederos para las vacas lecheras



Foto 6. Medición del área de cercado en el cual se alimentan las vacas lecheras de pastos cultivados como alfalfa y dactilis

SECUENCIA FOTOGRAFICA 6. Análisis químico de alimentos en el laboratorio de nutrición animal de medicina veterinaria y zootecnia.



Foto 1. Muestras pesadas y rotuladas para poner al horno secador.



Foto 2. El molido de muestra.



Foto 3. Incineración de las muestras a 650 centígrados por 3 horas.



Foto 4. Las muestras después de la digestión, destilación y titulación para determinación de proteína.



Foto 5. Determinación de fibra detergente neutro.



Foto 6. Determinación de extracto eterio.

SECUENCIA FOTOGRAFICA 7. Respuesta animal (producción metano) a la suplementación con concentrado fibroso. Estación Experimental Agraria Illpa, INIA-Puno.



Foto 1. La medición del metano del ambiente antes del ingreso del animal.



Foto 2. Ingreso dos animales del mismo grupo.



Foto 3. Las vacas en sala de medición de metano.



Foto 4. Serrando la sala de medición para su respectivo muestreo.



Foto 5. Medición de metano los últimos tres minutos de los diez minutos encerrado la vaca.



Foto 6. Resultado de la medición antes del ingreso del animal.

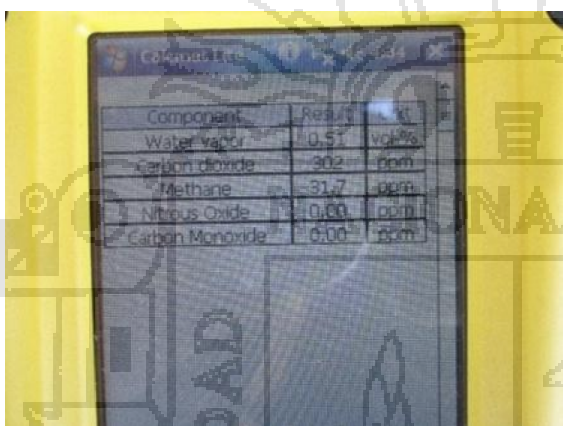


Foto 7. Resultado de la medición de los tres minutos que permaneció durante 10 minutos el animal



Foto 8. Salida de las vacas después de permanecer 10 minutos encerrados.

