

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA
MÁSTER EN PRODUCCIÓN ANIMAL



**EFFECTO DE LA DIETA SOBRE LA
PRODUCCIÓN DE METANO EN GANADO
CAPRINO: RESULTADOS PRELIMINARES Y
PUESTA A PUNTO DE LA METODOLOGÍA**

TESIS DE MÁSTER

ALUMNA:

M^a CARMEN LÓPEZ LUJÁN

DIRECTOR ACADÉMICO:

CARLOS FERNÁNDEZ MÁRTINEZ

VALENCIA, DICIEMBRE DE 2009

EFFECTO DE LA DIETA SOBRE LA PRODUCCIÓN DE METANO EN GANADO CAPRINO: RESULTADOS PRELIMINARES Y PUESTA A PUNTO DE LA METODOLOGÍA

EFFECT OF THE DIET ON THE METHANE PRODUCTION IN GOATS: PRELIMINARY RESULTS AND ADJUSTMENT OF THE METHODOLOGY

M^a Carmen López Luján

Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia,
Camino de Vera s/n, 46020 Valencia. España

Palabras clave adicionales: cabras, metano, cereal.

Additional keywords: goats, methane, cereal.

RESUMEN

Se utilizaron tres cabras hembras de raza Murciano-Granadina de un año y medio de edad y en estado de mantenimiento, con un peso medio de $33,08 \pm 1,92$ kg. Se realizaron dos pruebas de digestibilidad consecutivas mediante la administración de dos dietas que difirieron únicamente en el tipo de cereal (grano de cebada o maíz). La producción de metano (CH₄) y CO₂, y el consumo de O₂, se determinó por calorimetría indirecta mediante una máscara de circuito abierto adaptada a pequeños rumiantes. El día 4 de la prueba de digestibilidad se midió el CH₄ antes de administrar la ración diaria y se realizaron cinco medidas más, cada 35 minutos, mientras comían.

No se observaron diferencias significativas en el consumo de materia seca (con 758 g MS/cabra y día de media), ni entre los coeficientes de digestibilidad de las dos dietas (CDMS = 69,2% de media). Tampoco se encontraron diferencias significativas para los balances en energía y proteína para las 2 dietas. Durante la comida se observaron diferencias significativas ($P < 0,01$) en la producción de CH₄ con valores de 0,56 l/h para la dieta que contenía grano de cebada frente a los 0,87 l/h para la dieta con grano de maíz.

SUMMARY

Three 1.5 year old Murciano-Granadina female goats in maintenance were used. Their average weight was 33.08 ± 1.92 kg body weight. Two consecutive digestibility trials were conducted using diets which differ in the cereal type (barley or maize grains). The methane (CH₄) and CO₂ production, and O₂ consumption, was determined by indirect calorimetry while an open circuit mask adapted to small ruminants. The day four of digestibility trial CH₄ was measured before feeding and five more measurement each 35 minutes during feeding.

There were no significant differences neither in dry matter ingestion (758 g MS/goat and day as average) nor in digestibility coefficients (CDMS = 69.2% as average). Neither there were significant differences for protein and energy balances for the 2 diets. Significant differences ($P < 0,001$) were observed in the CH₄ production during the feeding time with levels of 0,56 and 0,87 l/h for the barley and maize based diets, respectively.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha producido un considerable debate y una creciente preocupación en torno al incremento de las emisiones de gases con efecto invernadero, como resultado de la actividad humana en general, y de la ganadería en particular. En cuanto al impacto de la ganadería, se reconoce que las actividades ganaderas emiten cantidades considerables de gases invernadero: dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄) y óxido nitroso (N₂O), que contribuyen de manera importante al cambio climático.

La ganadería es responsable de cerca del 23% de las emisiones de CH₄ globales de origen antropogénico (Khalil, 2000), debido mayoritariamente a la digestión de los rumiantes, que emiten metano durante la digestión del alimento en el rumen.

En la Tabla I se presenta la contribución relativa de las principales fuentes de metano en España. La contribución de la ganadería a las emisiones de CH₄ supera el 35%, considerando solamente la fermentación entérica, si además se incluye la gestión del estiércol, la ganadería es responsable del orden de un 60% del total de las emisiones de CH₄ (Ministerio de Medio Ambiente, 2007).

Tabla I. Componentes de las emisiones de metano a la atmósfera (%; Ministerio de Medio Ambiente, 2007).

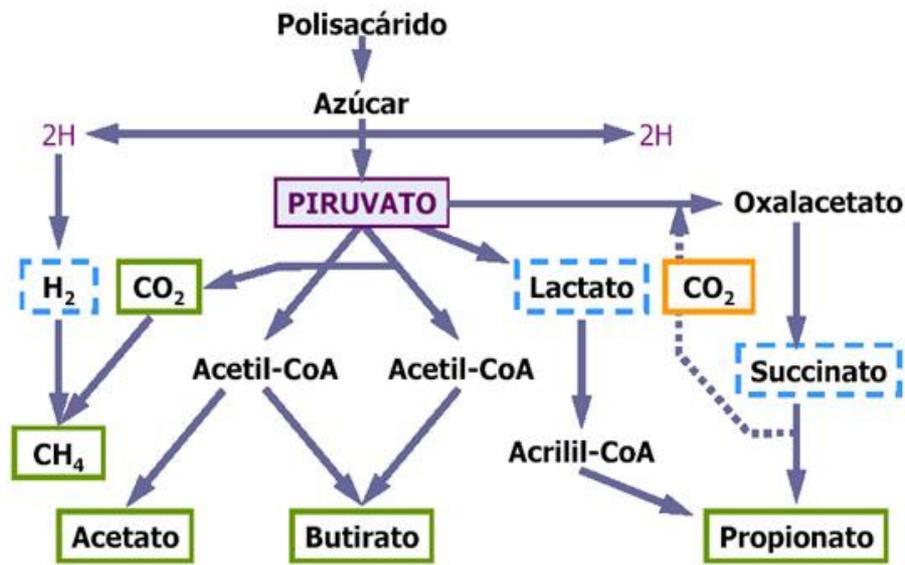
Fermentación entérica	36,2
Vertederos, tratamiento de aguas residuales y otros residuos	31,0
Gestión del estiércol	23,8
Fugas de los combustibles	5,0
Actividades de combustión energética	2,9
Arrozales	0,8

Como hemos comentado, el metano es un importante gas de efecto invernadero, su concentración en la atmósfera ha aumentado rápidamente y se ha multiplicado por dos desde el comienzo de la Era Industrial (Moss *et al.*, 2000; IPCC, 2001; Wuebbles y Hayhoe, 2002). Además, tiene un potencial de calentamiento de la tierra 23 veces superior al del CO₂ (IPCC, 2001). Por otro lado, su tiempo de permanencia en la atmósfera es reducido, por tanto, se puede actuar a corto plazo disminuyendo su concentración.

Los animales durante la digestión producen metano de forma natural, principalmente debido a los microorganismos presentes en el aparato digestivo, que fermentan el alimento consumido. El sustrato para estos procesos fermentativos son cadenas carbonadas procedentes principalmente de la hidrólisis de los hidratos de carbono del alimento, tanto de los carbohidratos de reserva (almidón) como de los hidratos de carbono estructurales que forman parte de la pared celular de las plantas (fracción fibrosa). El resultado de la hidrólisis de estos polisacáridos son sus azúcares constituyentes, de forma que tanto el almidón como la celulosa dan lugar a la liberación de glucosa como resultado final de este proceso. Análogamente, la hidrólisis de hemicelulosas, peptinas y fructanos dan lugar respectivamente a la formación de pentosas, ácidos urónicos o fructosa.

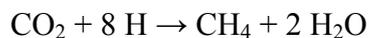
En una segunda etapa, como se puede observar en la Figura 1, la flora microbiana fermenta los azúcares liberados, dando lugar como producto final a la formación de ácidos grasos volátiles, CO₂, CH₄ y calor, así como al crecimiento y proliferación de los propios microorganismos.

Figura 1. Fermentación de los carbohidratos del alimento en los compartimentos digestivos de los rumiantes, dando lugar a la formación de metano y otros productos.



El metano producido de esta fermentación resulta inerte tanto para la flora microbiana como para el animal, por lo tanto es un producto de desecho nutricional (O’Kelly y Spiers, 1992; Lana *et al.*, 1998), eliminándose principalmente por exhalación o eructo.

La flora microbiana es extremadamente compleja, estableciéndose grupos de microorganismos en función del tipo de sustrato que fermentan. Un grupo de microorganismos anaerobios estrictos denominado “metanogénicos”, constituido por diferentes especies, es capaz de obtener energía reduciendo H₂ del gas del rumen y generando CH₄ como producto final:



La cantidad de metano que se produce como resultado de la fermentación depende de diversos factores, entre los cuales se encuentran los siguientes: el tipo de animal (rumiante o monogástrico), el tipo de dieta (forraje, dieta mixta o concentrada), el estado fisiológico y el nivel de alimentación; siendo los dos primeros, los factores más importantes.

Entre los tipos de animal, los rumiantes emiten significativamente mayores cantidades de CH₄ que los no-rumiantes debido a la elevada población de bacterias productoras de metano que habitan en el retículo-rumen (Crutzen *et al.*, 1986; Moss *et*

al., 2000). La producción de metano puede representar entre el 2 y 11% de la energía bruta consumida por el rumiante (Johnson y Johnson, 1995).

El tipo de alimento es el otro factor determinante de las cantidades de metano producido por el rumiante, ya que es el substrato donde actuarán los microorganismos productores de metano.

En el caso de los forrajes, se ha sugerido el uso de fuentes de fibra lignificadas como forma de reducir las emisiones de metano (Kreuzer y Hindrichsen, 2006). Un aumento en la ración de la proporción de concentrado en relación al forraje supone también un descenso considerable de la concentración de H, de bacterias metanogénicas y de la producción de CH₄ (Van Soest, 1994; Lana *et al.*, 1998). Y además, el tipo de concentrado incluido en la dieta (diferente proporción de endospermo harinoso o córneo) va a suponer modificaciones en la producción de metano como sugieren Beauchemin y McGinn (2005).

Por otro lado, para desarrollar estrategias que ayuden a mitigar las emisiones de metano de la ganadería debe ser posible medir previamente estas emisiones, para lo cual hay diversas técnicas disponibles (espectroscopía infrarroja, cromatografía de gases, espectroscopía de masas, entre otras). Pero el paso previo a la cuantificación es la toma de muestras de las emisiones gaseosas del propio individuo, la cual se puede realizar usando distintos dispositivos, como son cámaras respirométricas, que pueden ser de circuito abierto o cerrado, caperuzas (head boxes), cámaras ventiladas y máscaras (Johnson y Johnson, 1995).

En este trabajo se utiliza una máscara para recoger las emisiones gaseosas de los animales, pues es una técnica barata y que se puede realizar en la propia granja. Ésta se basa en que el animal respira el aire exterior y el aire expirado se recoge. Las emisiones de metano se determinan midiendo el flujo de aire total que circula por el sistema y la diferencia en la concentración entre el aire inspirado y expirado.

El objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto de la dieta sobre la producción de metano en ganado caprino en mantenimiento, digestibilidad, balance de nutrientes y puesta a punto de la metodología.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y dietas

Se han utilizado 3 cabras hembras de raza Murciano-Granadina de un año y medio de edad y en estado de mantenimiento. Dichas cabras pertenecen a la Granja Experimental del Dpto. de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia, que en el momento del trabajo contaba con un efectivo total de 85 cabras. Previo al experimento se pesaron los animales en una báscula para pequeños rumiantes con el objeto de seleccionar 3 animales homogéneos en cuanto a su peso vivo. Una vez seleccionadas las cabras se subieron a las jaulas metabólicas donde se alojaron durante la fase de adaptación (7 días) y la posterior fase experimental (5 días).

Las dos dietas experimentales que recibieron las cabras se formularon siguiendo las recomendaciones de Lachica y Aguilera (2003) e INRA (2007). Como software para la formulación de las dietas se utilizó el programa CAPRA v1 y las materias primas que se utilizaron fueron heno de alfalfa, cebada, maíz, harina de girasol y bloque vitamínico-mineral.

Las dietas se diferenciaron principalmente en que una de ellas tenía como fuente energética principal cebada (dieta C) y la otra maíz (dieta M). La fibra y la proteína la aportaba el heno de alfalfa y como concentrado proteico en ambas dietas se incorporó harina de girasol (*pellets*). También se puso a disposición de los animales un bloque de sal-vitamínico-mineral, que se administró en el propio comedero de la jaula, y agua limpia y fresca a voluntad.

La composición química de las raciones se analizó (por triplicado) siguiendo los métodos oficiales de análisis de AOAC (2000) para determinar materia seca (MS), cenizas, materia orgánica (MO), proteína bruta (PB) y extracto etéreo (EE). La fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina ácido detergente (LAD) se determinaron según Van Soest *et al.* (1991) utilizando la técnica de las bolsas de filtro de ANKOM. La concentración de energía de las dietas se determinó utilizando una bomba calorimétrica adiabática (Gallenkamp Autobomb; Loughborough, UK). En la Tabla II se muestran los ingredientes y la composición química de las dos dietas experimentales.

Tabla II. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales (%MS).

Ingredientes, g/kg	Dietas	
	C	M
Heno alfalfa	718	751
Cebada	179	-
Maíz	-	141
Harina girasol, <i>pellet</i>	90	94
Sal-Bloque vit-mineral	13	14
Composición química, % MS	C	M
MS (%)	87,2	87,0
Cenizas	8,4	9,3
PB	16,3	18,0
EE	1,0	1,2
FND	55,4	43,9
FAD	38,5	28,2
LAD	7,6	6,5
Energía bruta, MJ/kg MS	19,27	19,30

C: dieta cebada; M: dieta maíz; MS: materia seca; PB: proteína bruta; EE: extracto etéreo; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; LAD: lignina ácido detergente.

Procedimiento experimental

La temperatura y humedad relativa del aire estuvieron controladas durante toda la fase experimental mediante un sensor (HOBBO; software BoxCarPro3). La luz se mantuvo encendida de 07:00 a 19:00 horas.

Las cabras se alojaron en 3 jaulas de metabolocidad individuales provistas de un dispositivo para la recogida y separación de heces y de orina (ver Figura 2). El comedero estaba localizado en la parte exterior de la jaula, para evitar que la comida se mezclase con el excremento, y también era desmontable para el fácil manejo. El bebedero estaba dentro de la jaula y era automático. Inmediatamente debajo del suelo de la jaula, constituido por un enrejado metálico, se sitúa una fina rejilla que retiene las heces y permite el paso de la orina, la cual resbala por una plancha metálica en forma de V, ligeramente inclinada hacia detrás, y desagua en un recipiente donde queda recogida.

Figura 2. Jaulas metabólicas individuales con comedero en el exterior de la jaula, bebedero automático y bandejas de separación de heces y orina.



Las cabras se pesaron al principio y al final del periodo experimental. El experimento consistió en una fase de adaptación a las jaulas y dietas de 7 días, seguido de una fase experimental de 5 días durante la cual se controló el consumo de alimento y la producción de heces y de orina diariamente. Este mismo procedimiento se repitió dos veces, una primera para la dieta C y una segunda para la dieta M. Ambos procedimientos se realizaron con los mismos animales durante el mes de Julio de 2009. La ración se ofrecía a los animales en dos tomas diarias (8:30 y 15:00 h.)

Durante el periodo experimental se controló la ingestión de alimento diariamente mediante la recogida y peso diario del rehusado del alimento que se había ofrecido el día anterior. Las heces y la orina también se recogieron y midieron todos los días, antes del suministro de la ración de la mañana.

Las heces de cada día eran congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de su análisis, en el que se analizó el homogeneizado de cada animal de toda la fase experimental. El recipiente en el que se recogía la orina contenía 30 cc de una solución de ácido sulfúrico al 10%, de modo que la orina entraba en contacto con el ácido sulfúrico inmediatamente, con objeto de evitar pérdidas de nitrógeno amoniacal. Se tomaba una muestra representativa de la orina excretada diariamente por las cabras, que también se congeló hasta el momento de su análisis a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

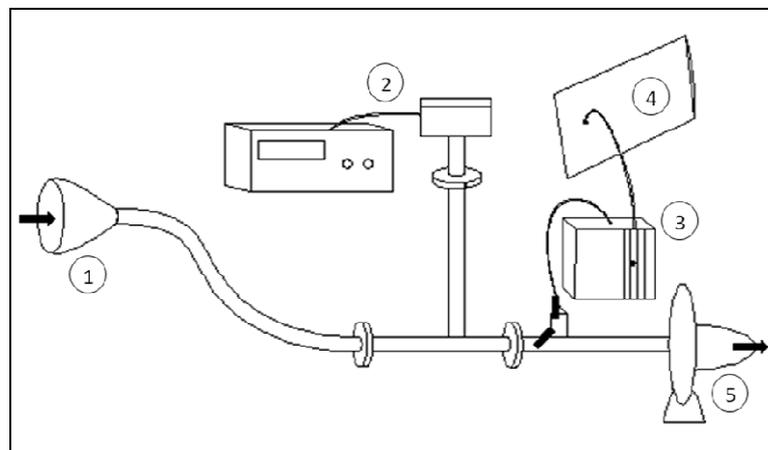
La composición química de las heces se analizó (por triplicado) siguiendo los métodos oficiales de análisis de AOAC (2000) para determinar MS, cenizas, MO y PB

y, según Van Soest *et al.* (1991) para determinar FND, FAD y LAD. La concentración energética en las heces y la orina se determinó utilizando una bomba calorimétrica (Gallenkamp Autobomb; Loughborough, UK). El contenido en nitrógeno amoniacal de la orina se determinó por destilación directa según el Standard Method 4500-NH₃ C (APHA, AWWA, WEF, 2005). A partir de los datos de las heces se calculó la digestibilidad de las dietas.

Medidas respirométricas

Se ha diseñado un equipo portátil de respirometría para pequeños rumiantes en la Unidad de Alimentación Animal del Dpto. de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia. Dicho dispositivo consiste en una máscara que se le coloca al animal, unida a un caudalímetro y éste a su vez a un ventilador centrífugo (Figura 3). Se trata de un sistema de circuito abierto que trabaja por calorimetría indirecta. Se utilizó para medir la producción de CO₂ y CH₄, y el consumo de O₂ de los animales, y de forma indirecta también se determinó la producción de calor (PC).

Figura 3. Esquema del diseño del equipo de respirometría portátil para pequeños rumiantes.



1: Máscara; 2: Caudalímetro y totalizador; 3: Bomba y caudalímetro; 4: Bolsa de recogida del aire; 5: Ventilador centrífugo.

El cuarto día del periodo experimental, antes de ofrecer la primera toma diaria de alimento, se tomó una muestra del aire expirado de cada cabra, realizándose previamente un blanco con aire atmosférico. A continuación, se volcó el alimento en los comederos y las cabras comenzaron a comer. Una hora después de repartir la comida se

retomaron las medidas de aire expirado por los animales. A partir de este momento, cada 35 minutos se repitió la toma de muestra de aire expirado a cada cabra, haciendo 5 mediciones por cabra a lo largo de la mañana. Entre las sucesivas medidas las cabras tenían a su disposición el alimento.

Cada medición consistió en recoger el aire expirado por el animal durante 10 minutos seguidos mediante una máscara de circuito abierto que se colocaba en la cabeza del animal, siguiendo la metodología propuesta por Brosh *et al.* (2002). Este aire quedaba contenido en una bolsa-balón Douglas (PanLab S.L. Harvard Apparatus) con una capacidad de 15 litros, siendo el caudal de entrada a la bolsa de 90 l/hora.

Para poder pasar una muestra del aire expirado a la bolsa era necesario conectar la máscara, mediante una tubería, a un caudalímetro (Sensyflow VT-S, ABB S.A.) regulado para trabajar a un ritmo medio de 2.000 litros de aire por hora. A su vez el caudalímetro estaba conectado a un ventilador centrífugo (CST60, Soler Palau S.A.). En la Figura 4 se muestra una fotografía del equipo de respirometría portátil, una vez montado y, conectado a la bolsa de recogida de aire.

Figura 4. Equipo de respirometría portátil con máscara de circuito abierto para pequeños rumiantes y bolsa de recogida de aire.



Tras los 10 minutos de recogida de aire expirado, la bolsa se cerraba herméticamente y se llevaba al laboratorio, donde se conectaba a un analizador de gases (Easyflow 3020, ABB S.A.) con cubetas de calibración incorporadas para medir concentraciones de oxígeno, dióxido de carbono y metano.

Balances energético y proteico

Durante la prueba de digestibilidad se realizaron dos balances, uno energético y otro proteico, de los cuales se obtuvo la energía y el nitrógeno que retuvieron los animales.

Para realizar el balance energético se determinó la energía retenida (ER) descontando a la energía bruta ingerida (EBi) las pérdidas producidas en heces (E_{heces}), orina (E_{orina}), metano (E_{CH_4}) y PC, según la siguiente expresión:

$$ER = EBi - E_{heces} - E_{orina} - E_{CH_4} - PC$$

La PC se determinó por calorimetría indirecta, como ya se ha comentado en el apartado de 'Medidas respirométricas', y para su cálculo se utilizó la ecuación de Brouwer (1965):

$$PC \text{ (KJ/d)} = 16,18 O_2 \text{ (l/d)} + 5,02 CO_2 \text{ (l/d)} - 2,17 CH_4 - 5,99 N_{orina} \text{ (g/d)}$$

También se calculó el balance de nitrógeno de los animales. El nitrógeno retenido (NR) en el organismo de los animales se determinó restando las pérdidas nitrogenadas en heces (N_{heces}) y orina (N_{orina}) al nitrógeno ingerido (N_i), según la siguiente expresión:

$$NR = N_i - N_{heces} - N_{orina}$$

Análisis de datos

Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza con el tipo de dieta como efecto fijo, los valores medios se compararon con un test de Duncan. Para ello se utilizó el software SPSS (2008) v16. El modelo lineal propuesto fue el que se muestra a continuación:

$$Y = a + bX + \xi$$

Y; variable dependiente (coeficientes digestibilidad, balances energía y proteína)

X; variable dependiente (dieta C o M)

a; término independiente

ξ ; error

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las condiciones de temperatura ambiente y humedad relativa, que fueron controladas continuamente durante todo el experimento, estuvieron comprendidas entre 24 y 31°C y entre 62 y 77% respectivamente, valores habituales del mes de Julio en el cual se llevó a cabo el trabajo.

Los resultados obtenidos relativos a la digestibilidad de las dietas se muestran en la Tabla III. No se encontraron diferencias significativas entre las dietas para la digestibilidad de las fracciones analizadas. Los animales de nuestro estudio fueron homogéneos en cuanto a edad, peso vivo y nivel productivo (mantenimiento) y, además las dietas eran isoenergéticas, cambiando sólo la fuente energética (concretamente el cereal), como se observa en la Tabla II.

Tabla III. Coeficientes de digestibilidad de las dietas experimentales (%).

	Dieta C	Dieta M	ES	P
MS	68,32	70,12	1,27	0,542
MO	69,19	71,15	1,22	0,486
PB	62,05	63,44	2,18	0,787
FND	44,54	42,41	1,23	0,475
Energía	67,69	69,55	1,32	0,544

*ES: error estándar; MS: materia seca; MO: materia orgánica;
PB: proteína bruta; FND: fibra neutro detergente;
Diferencias significativas $P < 0,05$.*

El considerar el tipo de cereal como único factor de variación explicaría la falta de diferencias significativas entre las 2 dietas, encontrándose dichos valores dentro del rango obtenido por otros autores en ganado caprino con dietas similares. Como puede observarse en la Tabla III, los coeficientes de digestibilidad para la MS y la EB fueron 69,2 y 68,6%, respectivamente, similares a los que se encuentran en los trabajos de otros autores como Prieto *et al.* (1990) con cabras Granadinas en mantenimiento (63,9 y 62,2%, respectivamente) o Bhatta *et al.* (2008) 65,0 y 66,8% respectivamente, con caprino y dietas afines.

Con aproximadamente un mismo peso vivo medio ($33,08 \pm 1,92$), las cabras del grupo M consumieron 86 g más de MS por día que las del grupo C, aunque las

diferencias no fueron significativas. Como las dietas tenían el mismo contenido energético (19,29 MJ/kg de MS de media), y debido al ligero mayor consumo de MS de las cabras del grupo M, el consumo de EB también fue superior, aunque nuevamente no significativo (ver Tabla IV).

Tabla IV. Efecto del grano de cereal sobre la producción de metano.

	Dieta C	Dieta M	ES	P
Ingestión, kg MS/cabra y día	0,715	0,801	0,046	0,414
Energía bruta dietas, MJ/kg MS	19,27	19,30	-	-
Ingestión de energía, MJ EB/cabra y día	13,77	15,45	0,91	0,144
Producción CH ₄ antes de comer, l/h	0,19	0,22	0,03	0,621
Producción CH ₄ durante la comida, l/h	0,56	0,87	0,07	0,001

ES: error estándar; Diferencias significativas $P < 0,05$.

Nuestro único factor de variación del experimento fue el tipo de cereal. En cuanto a su influencia en la producción de CH₄, puede verse en la Tabla IV que, antes de comer, la liberación de CH₄ en el aire exhalado por las cabras (determinado por calorimetría indirecta mediante una máscara de circuito abierto) no presenta diferencias entre las dos dietas (con un valor medio de 0,20 l CH₄ /h). Sin embargo, cuando se empezaron a realizar determinaciones sucesivas, tras una hora de espera después de ofrecer el alimento, se observó un aumento de la producción de CH₄, siendo significativamente ($P < 0,01$) superior cuando las cabras comen la dieta que contiene maíz frente a la dieta con cebada (0,56 vs 0,87 l/h para la dieta con cebada y maíz respectivamente, media de 5 determinaciones).

Sobre el efecto del grano de cereal en la fermentación ruminal, el grano de cebada es más fermentable que el grano de maíz con un menor contenido de endospermo harinoso y mayor dificultad de degradación. Según la bibliografía, la suplementación con fuentes de almidón menos degradable y la mejora de la calidad de las raciones, se presenta como una de las mejores vías para la reducción de las pérdidas de metano (Crutzen *et al.*, 1986; Johnson and Johnson, 1995; Moss *et al.*, 2000; Benchaar *et al.*, 2001; Beauchemin y McGinn, 2005).

Nuestros resultados muestran una tendencia contraria, probablemente esta tendencia sea debida a la sincronización en la degradación de la fuente energética (cebada) y proteica (harina de girasol), es decir, las velocidades de degradación de la cebada y de la harina de girasol son similares, quedando menos hidrógeno libre en el rumen para la formación de metano (Russell y Gahr, 2000).

Sin embargo, en la dieta con maíz el almidón se degrada lentamente frente a la rápida degradación de la harina de girasol, por lo tanto, no hay sincronía del maíz con la fuente proteica (harina de girasol) y puede dar lugar a más partículas groseras de almidón sin degradar en el rumen que favorecen la proliferación de bacterias metanogénicas a nivel ruminal; una mayor producción de hidrógeno que las bacterias metanogénicas utilizan para reducir el carbono del CO₂ a CH₄ (Hindrichsen *et al.*, 2006). Casper *et al.* (1999) sugirieron que las diferencias en la solubilidad y la degradabilidad de los carbohidratos no estructurales puede dar lugar a diferencias en las respuestas de los animales, y la sincronización de los carbohidratos no estructurales y la proteína degradada en el rumen mejora el rendimiento y reduce la producción de CH₄.

En la Tabla V se muestran los cálculos del balance energético. A partir de las medidas respirométricas realizadas en las cabras antes de ofrecerles el alimento, se determinaron la producción de metano y de calor y, no se encontraron diferencias significativas entre las dos dietas (los valores medios fueron 14,11 y 530,30 kJ/kg PV^{0,75} para la producción de metano y calor, respectivamente).

En cuanto a la EBi, las cabras con la dieta M ingirieron aproximadamente un 11,4% más de energía que con la dieta C, debido al 10,7% más de ingestión de MS observada con la dieta M (ver Tablas V y IV, respectivamente). Aunque estas diferencias no fueron significativas. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre las dietas para la energía digestible ingerida, energía metabolizable ingerida y ER.

La producción de metano de las cabras, expresada en valor calórico por Kg de peso metabólico, se incrementó durante la comida. Dichas diferencias fueron significativas (P<0,05) al comparar las 2 dietas; cuando las cabras comieron la dieta M produjeron 21,11 kJ/kg PV^{0,75} más de metano que cuando comieron la dieta C (un 35% más de CH₄ por Kg de peso metabólico). Prieto *et al.* (1990) observa en cabras Granadinas (machos castrados) alimentadas en mantenimiento, valores energéticos para

el metano de 60 y 45 kJ/kg PV^{0,75} para una dieta mixta basada en cebada y alfalfa peletizada y otra basada en heno de alfalfa , respectivamente.

La PC de las cabras durante la comida fue de 554,81 kJ/kg PV^{0,75} de media para las 2 dietas. Similar PC obtuvieron Aguilera *et al.* (1990) en cabras Granadinas en lactación (540 kJ/kg PV^{0,75}).

Tabla V. Producción de metano y de calor antes de comer y balance de energía durante la comida (kJ / kg PV^{0,75}).

kJ / kg PV ^{0,75}	Dieta C	Dieta M	ES	P
Previo comida				
CH ₄	12,92	15,29	1,78	0,569
PC	553,18	507,41	27,25	0,463
Durante comida				
EBi	996,29	1124,45	42,63	0,144
EDi	675,90	781,40	87,98	0,156
CH ₄	39,11	60,22	5,31	0,018
EMi	615,07	699,46	33,30	0,241
PC	578,93	530,69	28,54	0,460
ER	36,14	168,77	53,03	0,249

EBi: Energía Bruta ingerida; EDi: Energía Digestible ingerida; EMi: Energía Metabolizable ingerida; PC: Producción de calor; ER: Energía retenida; ES: error estándar; Diferencias significativas P<0,05.

El balance de energía fue positivo en las dos dietas, y aunque las diferencias no fueron significativas, las cabras del grupo M retuvieron 132,63 kJ/kg PV^{0,75} más de energía que las cabras del grupo C, lo que se debe probablemente a una mayor ingestión de MS. Dichos valores fueron relativamente pequeños, pues no se registraron variaciones en el peso vivo de las cabras. INRA (2007) asume 30 MJ por Kg de incremento de peso, y al AFRC (1998) un valor de 24 MJ/Kg de ganancia o pérdida de peso (o bien 2508 kJ/d para la recuperación de reservas corporales). No obstante serían necesarias más determinaciones del consumo de O₂ y producción de CO₂, para determinar con mayor precisión la PC.

En la Tabla VI se muestra el balance de nitrógeno. Solo se observan diferencias ($P < 0,05$) para el nitrógeno ingerido, que fue superior cuando los animales comieron la dieta M frente a la dieta C. Dichas diferencias no se mantuvieron, y para el resto del balance nitrogenado las diferencias fueron no significativas. Al final se obtiene un balance nitrogenado positivo de 0,41 y 0,63 g N/kg PV^{0,75} para la dieta C y la dieta M, respectivamente, siguiendo la misma tendencia que la observada para la retención de energía.

Tabla VI. Balance de nitrógeno de las cabras (g N / kg PV^{0,75}).

g N / kg PV ^{0,75}	Dieta C	Dieta M	ES	P
Ni	1,35	1,68	0,09	0,027
Ndig	0,84	1,07	0,07	0,113
NR	0,41	0,63	0,07	0,129

Ni: Nitrógeno ingerido; Ndig: Nitrógeno digestible; NR: Nitrógeno retenido; ES: error estándar; Diferencias significativas $P < 0,05$.

En la Tabla VII se muestra la producción de CH₄ durante la comida en valor calórico por cabra y día y, también como porcentaje de la EBi, forma más habitual de expresar las pérdidas de CH₄ a nivel práctico. A este factor de conversión de CH₄ se le conoce con el término Y_m , y se ha calculado a partir de nuestros resultados y también a partir de las ecuaciones más representativas de la bibliografía.

En un trabajo de Beauchemin y McGinn (2005) se muestra que la sustitución de grano de cebada por grano de maíz reduce las emisiones de metano desde un 4,03 hasta un 2,81% de la EBi en raciones concentradas. Sin embargo, en nuestro estudio se observó una tendencia contraria, cuando las cabras consumieron la dieta M produjeron más CH₄ que cuando comieron la dieta C, siendo las diferencias encontradas significativas ($P < 0,05$). Aunque cuando esta producción se expresa como porcentaje sobre el consumo de EB las diferencias dejan de ser significativas (valor medio de $Y_m = 4,66$, ver Tabla VII).

Los valores de producción de metano obtenidos por nosotros, expresados en kJ/cabra y día están dentro de los rangos encontrados por autores como Aguilera *et al.* (1990) y Prieto *et al.* (1990) en cabras Granadinas (380,5 y 637,9 KJ/cabra y día, respectivamente).

Tabla VII. Producción de CH₄ y valores de *Y_m*.

	Dieta C	Dieta M	ES	P
CH ₄ durante comida, kJ/cabra y día	531,42	822,43	66,59	0,010
<i>Y_m</i> , durante comida	3,96	5,35	0,40	0,072
Valores estimados según diferentes autores				
<i>Y_m</i> (Blaxter y Clapperton, 1965) [1]	7,87	7,98		
<i>Y_m</i> (Aguilera y Prieto, 1991) [2]	7,64	7,92		
<i>Y_m</i> (de Blas <i>et al.</i> , 2008) [3]	5,87	5,69		

ES: error estándar; Diferencias significativas $P < 0,05$.

Como se indica en las guías del IPCC (IPCC 1996; IPCC 2006), el valor de *Y_m* depende de la calidad y digestibilidad de las distintas dietas. Dada la relación negativa que existe entre el *Y_m* y la digestibilidad, se asume que a medida que aumenta la digestibilidad disminuye el *Y_m*. Las diferencias numéricas que encontramos son debidas a que *Y_m* calculada se hace a partir de la EBi, y las estimadas por las ecuaciones de la bibliografía se hacen a partir del coeficiente de digestibilidad de la energía (que en nuestro caso fue numéricamente superior para el maíz).

Los valores de *Y_m* que se encuentran en la bibliografía varían entre el 2% y el 11% de la energía ingerida para distintas dietas (Johnson y Johnson, 1995). Los valores obtenidos en este trabajo se encuentran dentro de este intervalo, más bien hacia el límite inferior debido a que nuestras raciones no son extensivas (basadas en pastos) y los animales estaban en mantenimiento.

Blaxter y Clapperton (1965) establecieron el primer modelo para la estimación de la producción de CH₄ en rumiantes, a partir de datos de ganado ovino adulto consumiendo raciones basadas en pastos. Dicho modelo es el siguiente (ecuación 1):

$$Y_m = 1,30 + 0,112 \times dE + L \times (2,37 - 0,05 \times dE) \quad [1]$$

Donde:

Y_m = Factor de conversión de CH₄ (fracción de la EB del alimento que se transforma en CH₄).

dE = Digestibilidad aparente de la energía (%).

L = Nivel de alimentación (múltiplos del nivel de mantenimiento, L = 1).

Al utilizar esta ecuación con nuestros datos nos da valores muy elevados si los comparamos con los calculados, debido a que dicha ecuación está basada como hemos comentado en dietas forrajeras basadas en pastos. Es decir, esta ecuación no incluye raciones mixtas con concentrado.

Aguilera y Prieto (1991) establecieron una ecuación de regresión lineal para ganado caprino, calculada a partir de los datos de 32 balances energéticos en animales que consumieron dietas basadas en heno de alfalfa o éste y cebada. Tal ecuación se expone en la línea siguiente (ecuación 2):

$$Ym = 0,151 \times dE - 2,58 \quad [2]$$

Donde:

Ym = Factor de conversión de CH_4 (fracción de la EB del alimento que se transforma en CH_4).

dE = Digestibilidad aparente de la energía (%).

Estos autores encontraron una correlación positiva entre la producción de metano y la digestibilidad energética de la dieta, al igual que encontraron Blaxter y Clapperton (1965), así, los valores de Ym obtenidos con esta ecuación son superiores a los reales. La situación general que nos encontramos en España (sobre todo en rumiantes lecheros de alta-media producción), y en muchos países europeos, es el de la utilización de dietas mixtas o concentradas frente a dietas basadas en el pastoreo, por ello es necesario revisar otros modelos de predicción de Ym .

Un modelo más reciente, fruto de una importante recopilación de trabajos científicos, es el que presenta de Blas *et al.* (2008). Estos autores observaron una correlación negativa entre la concentración energética de la dieta y la producción de metano. Seguidamente se presenta la ecuación obtenida, resultado de una amplia revisión de ensayos recientes (ecuación 3):

$$Ym = -0,096 \times dE + 12,367 \quad [3]$$

Donde:

Ym = Factor de conversión de CH_4 (fracción de la EB del alimento que se transforma en CH_4).

dE = Digestibilidad aparente de la energía (%).

Si utilizamos la ecuación de de Blas *et al.* (2008), nuestras dietas experimentales se encuentran con un Y_m en torno a un 5,7 (valor más próximo al obtenido a partir del ensayo; $Y_m = 4,66$). De Blas *et al.* (2008) observaron que los valores medios de Y_m se reducen desde aproximadamente un 6,5-7,5% en raciones extensivas hasta un 4,0-4,5% en raciones concentradas, valores más próximos al de nuestras dietas experimentales.

Por tanto, para las condiciones en las que hemos realizado el ensayo, nuestros resultados se englobarían dentro de las dietas mixtas, y manejando los concentrados de la dieta de forma adecuada se pueden conseguir reducciones en la producción de metano de aproximadamente un 31% (producción media de metano previa al suministro de alimento y durante la comida, l/h, Tabla IV) a favor de la mezcla cebada + harina de girasol frente a maíz + harina de girasol.

CONCLUSIONES

Es posible estimar la producción de metano en pequeños rumiantes mediante una máscara de circuito abierto adaptada.

También es posible reducir la producción de metano en animales rumiantes mediante un manejo adecuado de la alimentación y, en nuestro caso concreto, mediante una combinación idónea de los concentrados en energía y proteína (reducciones medias del 31%). Pero no cabe duda que nos encontramos ante unos resultados preliminares, y son necesarios más estudios en donde tengamos en cuenta más factores ligados al animal, a los alimentos y a las condiciones medioambientales.

BIBLIOGRAFÍA

- AFRC. 1998. The nutrition of goats. CAB International, Oxon, UK, pp. 41-51.
- Aguilera, J.F.; Prieto, C. and Fonollá, J. 1990. Protein and energy metabolism of lactating Granadina goats. *Brit. J. Nutr.*, 63: 165-175.
- Aguilera, J.F. and Prieto, C. 1991. Methane production in goats given diets based on lucerne hay and barley. *Arch. Anim. Nutr.*, 41: 77-84.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of the AOAC International. 17th Ed. Association of Official Analytical Chemist. Arlington, USA.

- Beauchemin, K.A. and McGinn, S.M. 2005. Methane emissions from feedlot cattle fed barley or corn diets. *J. Anim. Sci.*, 83: 653-661.
- Benchaar, C.; Pomar, C. and Chiquette, J. 2001. Evaluation of dietary strategies to reduce methane production in ruminants: A modeling approach. *Can. J. Anim. Sci.*, 81: 563-574.
- Bhatta, R.; Enishi, O.; Takusari, N.; Higuchi, K.; Nonaka, I. and Kurihara, M. 2008. Diet effects on methane production by goats and a comparison between measurement methodologies. *J. Agric. Sci.*, 146: 705-715.
- Blaxter, K.L. and Clapperton, J.L. 1965. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *Br. J. Nutr.*, 19: 511-522.
- Brosh, A.; Aharoni, Y. and Holzer, Z. 2002. Energy expenditure estimation from heart rate: validation by long-term energy balance measurement in cows. *Livestock Production Science*, 77: 287-299.
- Brouwer, E. 1965. Report of Sub-committee on Constants and Factors. In *Proceedings of 3rd European Association for Animal Production Symposium on Energy Metabolism*. London: Academic Press, 11: 441-443.
- CAPRA v.1. 2008. Racionamiento para Ganado Caprino Lechero. Ed. Universidad Politécnica de Valencia, referencia 2008.2165.
- Casper, D.; Maiga, H.; Brouk, M. and Schingoethe, D. 1999. Synchronization of carbohydrate and protein sources on fermentation and passage rates in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 82: 1779-1790.
- Crutzen, P.J.; Aselman, I. and Seiler, W. 1986. Methane production by domestic animals, wild ruminants, other herbivorous fauna, and humans. *Tellus*, 38: 271-284.
- De Blas, C.; García-Rebollar, P.; Cambra-López, M. y Torres, A.G. 2008. Contribución de los rumiantes a las emisiones de gases con efecto invernadero. XXIV Curso de especialización FEDNA, p. 121-150.
- Hindrichsen, I.K.; Wettstein, H.R.; Machmuller, A. and Kreuzer, M. 2006. Methane emission, nutrient degradation and nitrogen turnover in dairy cows and their slurry at different milk production scenarios with and without concentrate supplementation. *Agr. Ecosyst. Environ.*, 113: 150-161.

- INRA. 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins. Besoins des animaux – Valeurs des aliments. Ed. Quae. Paris, 307 pp.
- IPPC. 1996. Revised 1996 IPPC Guidelines for national greenhouse gas inventories. Chapter 4. Agriculture. IPPC/OECD/IEA. Paris, 140 pp.
- IPCC. 2001. Climate change 2001: The scientific basis. In: J.T. Houghton (Eds.). Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Cambridge University Press. Ginebra, 944 pp.
- IPCC. 2006. 2006 IPCC Guidelines for national greenhouse gas inventories. Volume 4. Agriculture, forestry and land use. IGES. Kanagawa, Japón, 10: 1-87.
- Johnson, K.A. and Johnson, D.E. 1995. Methane emissions in cattle. *J. Anim. Sci.*, 73: 2483-2492.
- Khalil, M.A.K. 2000. Atmospheric methane: An introduction. In: M.A.K. Khalil (Ed.) Atmospheric methane, its role in the global environment. Springer-Verlag. Berlín, p. 1-8.
- Kreuzer, M. and Hindrichsen, I.K. 2006. Methane mitigation in ruminants by dietary means: The role of their methane emission from manure. *International Congress Series*, 1293: 199-208.
- Lachica, M. y Aguilera, J.F. 2003. Estimation of energy needs in the free-ranging goat with particular reference to the assessment of its energy expenditure by the ¹³C-bicarbonate method. *Small ruminant research*, 49: 303-318.
- Lana, R.P.; Russell, J.B. and Van Amburgh, M.E. 1998. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. *J. Anim. Sci.*, 76: 2190-2196.
- Ministerio de Medio Ambiente. 2007. Inventario de emisiones de gases de efecto invernadero de España. Años 1990-2005. Comunicación a la Comisión Europea. Decisiones 280/2004/CE y 2005/166/CE. Ministerio de Medio Ambiente. Madrid, Spain, 330 pp.
- Moss, A.R.; Jouany, J.P. and Newbold, J. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Ann. Zootech.*, 49: 231-253.
- O'Kelly, J.C. and Spiers, W.G. 1992. Effect of monensin on methane and heat productions of steers fed Lucerne hay. *Aust. J. Agric. Res.*, 43: 1789-1793.

- Prieto, C.; Aguilera, J.F.; Lara, L. and Fonollá, J. 1990. Protein and energy requirements for maintenance of indigenous Granadina goats. *Brit. J. Nutr.*, 63: 155-163.
- Russel, R.W. and Gahr, S.A. 2000. Glucose availability and associated metabolism. In *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. J.P.F. D'Mello (Ed.) CAB Intl. Publ., Wallingford, Oxon, UK, p. 121-147.
- Standard Methods. 2005. Standard methods for examination of water and wastewater. 21st Ed. American Public Health Association. Washington.
- Statistical Package for the Social Sciences 2008. SPSS v16 para Windows.
- Van Soest, P.J.; Robertson, J.B. and Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 74: 3583-3597.
- Van Soest, P.J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2° Ed. Comstock. Cornell University Press., 476 pp.
- Wuebbles, D.J. and Hayhoe, K. 2002. Atmospheric methane and global change. *Earth-Sci. Rev.*, 57: 177-210.