



EMISIONES DE METANO ENTÉRICO EN RUMIANTES DETERMINADA POR LA TÉCNICA DE HEXAFLUORURO DE AZUFRE

Efrén Ramírez-Briebesca^{1§}, Vinisa Saynes Santillan², Rosy G. Cruz Monterrosa³, David Hernández Sánchez¹

¹Colegio de Postgraduados. Programa de Ganadería. Km. 36.5 Carr. México Texcoco. Montecillo Edo. de México. CP 56230.). ²Colegio de Postgraduados. Programa de Edafología. Km. 36.5 Carr. México Texcoco. Montecillo Edo. de México. CP 56230. ³Ciencia de los Alimentos. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Lerma Edo. de México. [§]Autor para correspondencia: (efrenrb@colpos.mx).

RESUMEN

La técnica de hexafluoruro de azufre (SF₆) ofrece una alternativa para determinar las concentraciones de metano (CH₄) en el ganado. Como todas las técnicas cuenta con ciertas ventajas y desventajas y esta aprobada por la asociación Green house Gases and Animal Agriculture. Los primeros resultados que obtuvimos con la SF₆ coinciden con lo reportado con datos americanos. Específicamente hemos evaluado la importancia del cobre suplementario en ganado sobre el efecto de disminuir las emisiones de CH₄, sugiriendo que la cantidad de 40 mgCu/kgMS es idónea para el ganado bovino.

INTRODUCCIÓN

Una preocupación de la sociedad y los gobiernos, es el problema que está ocasionando el cambio climático a la tierra (Meinshausen *et al.*, 2009). Por sectores, la actividad agrícola representa el 60% de las emisiones de bióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄) y óxido nitroso (N₂O); mientras la actividad ganadera contribuye del 10 al 12% de las emisiones antropogénicas totales de gases de efecto invernadero (Smith *et al.*, 2008). Específicamente el CH₄ formado por los rumiantes, es el producto final de la fermentación de los alimentos en el rumen, que en términos de energía, es una pérdida de más de 10% (Johnson y Johnson, 1995) y contribuye al calentamiento climático. La ganadería produce alrededor de 7.1 giga-toneladas equivalentes de CO₂ al año (GT CO₂ eq); esta cantidad equivale a 15% de las emisiones antropogénicas de GEI según la FAO (2013). En rumiantes, la fermentación entérica produce alrededor de 2.8 GT CO₂ eq de CH₄ cada año, el 77% equivale exclusivamente a ganado de producción (FAO, 2013). Las estrategias para disminuir las emisiones de CH₄ en los rumiantes van desde la selección genética, manejo del ambiente, técnicas alimenticias, uso de modificadores de la digesta y vacunas. En los animales, la manipulación del ecosistema microbiano en el rumen puede mejorar la digestibilidad de los alimentos fibrosos y reducir las emisiones de CH₄ (Patra *et al.*, 2006; Guglielmelli *et al.*, 2011). En referencia a la cuantificación de CH₄, en México existen técnicas que son con cámaras de respiración de circuito abierto, equipo de análisis infrarrojo y la técnica de hexafluoruro de azufre (SF₆).

Técnica de hexafluoruro de azufre

La técnica que utiliza SF₆ como trazador para la medición de las emisiones de CH₄ entérico fue desarrollada por Kristen A. Johnson y Hal H. Westberg, en Washington State University, Pullman,



Washington, EE. UU en 1994. El desarrollo de esta técnica se fundamenta en el conocimiento de que aproximadamente el 95% del CH₄ ruminal (87% de la producción total) es eructado y que el 89% del CH₄ generado en intestino grueso (11% del total) se elimina a través de los pulmones. Así, aproximadamente el 99% de la producción total de CH₄ es exhalado por boca y nariz (83% por eructación y 16% por exhalación).

México todavía es carente en investigación de emisiones CH₄ ganadero, Actualmente se están creando estrategias en los manejos de sistemas de producción que puedan ayudar a mitigar el problema provocado por la ganadería. Por ejemplo, en el trópico húmedo del país, ya existe pérdidas en la masa forestal con bajos contenidos de materia orgánica y nitrógeno, hay degradación de suelos, la carga animal por hectárea es de 0.6 a 1.8 y el pastoreo se da con pasturas nativas o algunas inducidas que han resistido a los cambios climáticos. Principalmente el manejo de los agostaderos consiste en deshierbe con machete y quema del pastizal antes del periodo de lluvias. El nivel tecnológico es bajo y se limita el sistema, con enfermedades y baja productividad del ganado, seguido de escasez estacional de pastos y la falta de créditos y canales de comercialización. En general, la ganadería es relevante y debemos innovar tecnologías para contrarrestar el cambio climático. Actualmente algunas instituciones como la UADY, ECOSUR, INIFAP, FMVZ-UNAM, UAEH, UAEMex, UACH, ITT y el CP están realizando trabajos científicos con CH₄ *in vitro* e *in vivo* y con limitaciones económicas. Nuestra propuesta de investigación se ha enfocado a estandarizar la técnica de hexafluoruro de azufre con el propósito de hacer eficiente las mediciones de CH₄. La Figura 1 esquematiza los pasos que hemos implementado en el desarrollo de la técnica SF6:

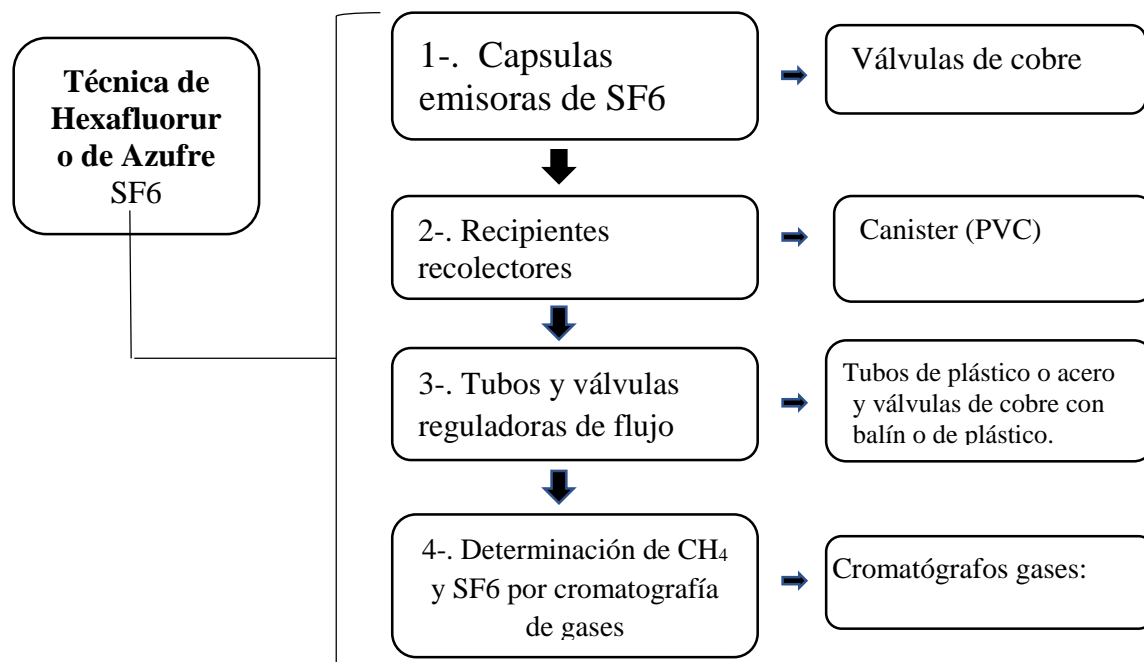


Figura 1. Estudio de investigación: Cuantificación de metano entérico con SF6.



Un trabajo previo realizado en el Colegio de Postgraduados, campus Montecillo se usaron seis toros Holstein ($570 \pm 2,1$ kg). Todos los animales se dividieron en dos grupos de tres toros y se asignaron a dos dietas experimentales en un arreglo de diseño cruzado (cross over) con 21 d para cada período. Las dietas experimentales se formularon con 61% de forraje, y dentro de cada grupo se asignaron tratamientos sin Cu (24.2 mg Cu / kg DM, contenido en el alimento), y 45.2 mg Cu/kg MS, suplementado con sulfato de cobre (CuSO_4). Todos los toros se alimentaron con $12,48$ kg de la dieta basal, dieta restringida.

La emisión de CH_4 por animal se calculó utilizando el PR de cada cápsula de SF_6 y la concentración de CH_4 y SF_6 . CH_4 (g/d) = PR SF_6 (g/d) x $[\text{CH}_4 - \text{BGCH}_4] / [\text{SF}_6 - \text{BGSF}_6]$ donde: $[\text{CH}_4]$ y $[\text{SF}_6]$ son las concentraciones de estos gases en los muestreadores y BG son las concentraciones atmosféricas de fondo. El Cuadro 1 muestra los resultados de digestibilidad y emisiones de CH_4 en ambos tratamientos. La digestibilidad total de la MS, FDN y N no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ambos tratamientos. El grupo suplementado con el CuSO_4 disminuyó ($p < 0.001$) la digestibilidad total de Cu en 16.6 unidades, comparado con el tratamiento sin suplemento de Cu. Las emisiones de CH_4 en el T+Cu expresadas en gramos y Mega Jules por día, tendieron ($p < 0.1$) a disminuir 48.8 y 2.7 unidades, respectivamente. Lógicamente el Ym también tendió ($p < 0.1$) a ser más bajo en el T+Cu vs. T-sin-Cu.

Cuadro 1. Medias de digestibilidad, pH y ácidos grasos volátiles en rumen, y emisión metano de toros alimentados con forraje.

Fuente	No suplementado con cobre	Suplementado con cobre	p- valor
Digestibilidad, %			
Materia seca	78.33 ± 3.32	77.72 ± 3.56	0.95
FDN	62.58 ± 4.41	61.48 ± 3.81	0.96
Nitrógeno	73.41 ± 6.14	71.46 ± 4.07	1.77
Cobre	78.44 ± 3.74	58.85 ± 6.67	0.001
Emisión de metano			
CH_4 (g/día)	213.22 ± 50.60	164.46 ± 40.72	0.09
CH_4 (MJ/día)	11.84 ± 2.81	9.14 ± 2.26	0.09
Ym, %	4.76 ± 1.13	3.67 ± 0.91	0.09

Ym, % = $(\text{CH}_4 \text{ (MJ/día)} / \text{consumo de energía total (MJ/d)}) \times 100$.

La digestibilidad de la MS, FDN y N no tuvieron diferencias entre los dos tratamientos del estudio. El rastrojo de maíz fue la principal fuente de fibra que se adicionó a la dieta, este se caracteriza por alto contenido de fibra (FDN=62%) y baja proteína (~5%) (Chea, 2015; Demo-os *et al.*, 2000). La digestibilidad promedio de la FDN y N en ambos tratamientos fue 62 y 72%. Principalmente la digestibilidad de la FDN y N depende de la calidad del forraje y el mezclado con otros ingredientes de la ración; un estudio realizado en becerras menciona que el suplemento de Cu y Co en la dieta mejoró la digestibilidad de fibra y la degradación de la celulosa en el rumen (Pino y Heinrichs, 2016). En nuestro estudio, la digestibilidad de Cu fue menor cuando se adicionó CuSO_4 ; sin embargo, una mayor cantidad de Cu suplementario aumentó la absorción y el contenido en los tejidos de sangre e hígado (Rabiansky *et al.*, 1999). Spears (2003) en una revisión publicada



menciona que la absorción de Cu en rumiantes neonatos es de 70-85% y disminuye hasta el 10% después del destete; las causas que limitan la absorción de Cu se enfocan en la interacción con otros minerales como el azufre, molibdeno y hierro (Fe) de la dieta; el Fe reacciona con sulfuro y Cu formando complejos de sulfuros de Fe y Cu (Suttle y Peter, 1985); estos minerales estuvieron en niveles adecuados en nuestro experimento (NASEM, 2016). Otro factor asociado a la digestibilidad de Cu, es la presencia de los tiomolibdatos, estos reaccionan con el Cu y forman tiomolibdatos de Cu insolubles en la fase sólida de la digesta del rumen, mientras que en la fase líquida los tiomolibdatos no se unen (Gould y Kendall, 2011); esta teoría hace suponer que el CuSO_4 suplementario en nuestro estudio posiblemente formó tiomolibdatos de Cu y aumentó la excreción del micromineral. Las raciones altas en forraje son abundantes en carbohidratos estructurales y mantienen un pH en rumen mayor a 6.0, incrementando la actividad celulolítica y digestión de las fibra (Eun *et al.*, 2004). Los cambios en la tasa de fermentación del rumen, depende principalmente del tipo de dieta (forrajes y almidones) y de las poblaciones bacterianas (Piñeiro-Vázquez *et al.*, 2017); aunque también los microminerales orgánicos mejoran la replicación de los microorganismos ruminales y estimulan la tasa de fermentación (Pino y Heinrichs, 2016).

El CH_4 entérico no mostró una diferencia, pero hubo una tendencia a disminuir la emisión de CH_4 con CuSO_4 . Un estudio realizado con becerras lecheras cita reducción de CH_4 con suplemento de sales minerales, atribuyendo el efecto a los filotipos de *Methanobrevibacter* y la competencia de iones H^+ durante la formación de propionato (Li *et al.*, 2017). Pero no todos los minerales que se suplementaron tienen efecto antimetanogénico; principalmente los sulfatos y el Cu disminuyen la formación de CH_4 . Datos publicados indican que el Cu es tóxico para algunas bacterias del rumen (Durand y Kawashima, 1980) y el uso de CuSO_4 en una prueba de fermentación *In vitro* disminuyó la emisión de CH_4 (Hernández-Sánchez *et al.*, 2019). Contrariamente, un estudio realizado por Biscarini *et al.* (2018) indicaron que el suplemento de Cu modificó el microbioma del rumen pero no hubo un efecto sobre las bacterias metanogénicas y el metabolismo de CH_4 en rumen. Al parecer la disminución de CH_4 no es tan sencilla como parece, durante el proceso de metanogénesis hay variaciones en los 16S rRNA. La concentración promedio de CH_4 entérico en este estudio fue 189 g d^{-1} , este dato coincide con el inventario de emisiones de CH_4 US cattle (Westberg *et al.*, 2001), indicando valores desde 188 hasta 231 g d^{-1} en toros. La producción de CH_4 como proporción de la ingesta de ET (Y_m) obtenida fue de 4.2% promedio. Los rangos de Y_m se basan en la digestibilidad y el valor energético de las raciones. El Y_m para el ganado bovino que reporta la IPCC (2006) es de 2 hasta 7.5%, correspondientes a digestibilidades de 45 hasta 85%.

CONCLUSIONES

El efecto de los minerales sobre las emisiones de CH_4 ha sido poco estudiado. Específicamente el CuSO_4 , es una alternativa complementaria que puede contribuir a formar menos CH_4 entérico. En nuestro estudio, el grupo con suplemento de Cu disminuyó ligeramente la formación de CH_4 , aunque no hubo una diferencia significativa. Sin embargo, se recomienda incluirlo a la dosis de 40 g/kgMS en bovinos pastoreando, no se disminuye la digestibilidad de los nutrientes, no causa toxicidad en bovinos y puede mejorar la actividad de las enzimas dependientes de Cu en el organismo animal.



LITERATURA CITADA

- Biscarini, F., F. Palazzo, F. Castellani, G. Masetti, L. Grotta, A. Cichelli and G. Martino. 2018. Rumen microbiome in dairy calves fed copper and grape-pomace dietary supplementations: Composition and predicted functional profile. PLOS ONE 13: e0205670. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205670>
- Demo-os, R. A., M. T. S. J. Valdez and M. C. Mapili. 2000. Feeding value of corn-stover-swine waste silage for beef cattle. Jr (Tarlac Coll. of Agriculture, Camiling, Tarlac (Philippines). Dept. of Animal Science 26: 169-174.
- Durand, M. and R. Kawashima. 1980. Influence of minerals in rumen microbial digestion, in: Ruckebusch, Y., Thivend, P. (Eds.), Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 375-408. https://doi.org/10.1007/978-94-011-8067-2_18
- Eun, J. S., V. Fellner, J. C. Burns and M. L. Gumpertz. 2004. Fermentation of eastern gamagrass (*Tripsacum dactyloides* [L.] L.) by mixed cultures of ruminal microorganisms with or without supplemental corn. Journal of Animal Science 82, 170-178. <https://doi.org/10.2527/2004.821170x>
- FAO. 2013. Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Combatir el clima a través del ganado: una evaluación global de las emisiones y oportunidades de las emisiones y oportunidades de mitigación.
- Guglielmelli, A., S. Calabro, R. Primi, F. Carone, M. I. Cutrignelli, R. Tudisco, G. Piccolo, B. Ronchi and P. P. Danieli. 2011. In vitro fermentation patterns and methane production of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) hay with different condensed tannin contents: *In vitro* fermentation, methane production and tannin content of sainfoin. Grass and Forage Science 66: 488-500. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2011.00805.x>
- Gould, L. and N. R. Kendall. 2011. Role of the rumen in copper and thiomolybdate absorption. Nutrition Research Reviews 24: 176-182. <https://doi.org/10.1017/S0954422411000059>
- Hernández-Sánchez, D., D. Cervantes-Gómez, J. E. Ramírez-Briebesca, M. Cobos-Peralta, R. Pinto-Ruiz, L. Astigarraga and J. I. Gere. 2019. The influence of copper levels on *in vitro* ruminal fermentation, bacterial growth and methane production: Influence of Cu on *in vitro* ruminal fermentation. Journal of the Science of Food and Agriculture 99: 1073-1077. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9274>
- IPCC. 2013. Carbono y otros ciclos biogeoquímicos. En: Cambio climático 2013. La base de la ciencia Física. Contribución del grupo de trabajo I al quinto informe de evaluación del papel intergubernamental sobre cambio climático. Cambridge.
- Johnson, J. D. E., K. A. Johnson, G. M. Ward and M. E. Branine. 2000. Ruminants and other animals. Springer.
- Li, F., S. Cheng, H. Yu and D. Yang. 2016. Waste from livestock and poultry breeding and its potential assessment of biogas energy in rural China. Journal of Cleaner Production 126: 451-460. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.02.104>
- Meinshausen, M., N. Meinshausen, W. Hare, S. C. B. Raper, K. Frieler, R. Knutti, D. J. Frame and M. R. Allen. 2009. Greenhouse-gas emission targets for limiting global warming to 2 °C. Nature 458: 1158-1162. <https://doi.org/10.1038/nature08017>



- NASEM. 2016. National Academies of Science, Engineering, and Medicine (NASEM). Nutrient Requirements of Beef CATTLE, 8 th reviced. ed. The National Academies press, Washington, DC.
- Patra, A. K., D. N. Kamra and N. Agarwal. 2006. Effect of plant extracts on in vitro methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Animal Feed Science and Technology* 128: 276-291. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.11.001>
- Pino, F. and A. J. Heinrichs. 2016. Effect of trace minerals and starch on digestibility and rumen fermentation in diets for dairy heifers. *Journal of Dairy Science* 99: 2797-2810. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10034>.
- Piñeiro-Vázquez, A., J. R. Canul-Solis, F. Casanova-Lugo, A. J. Chay-Canul, A. J. Ayala-Burgos, A. J. Solorio-Sánchez, C. F. Aguilar-Pérez y J. C. Ku-Vera. 2017. Emisión de metano en ovinos alimentados con Pennisetum purpureum y árboles que contienen taninos condensados. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 8: 111. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v8i2.4401>
- Rabiansky, P. A., L. R. McDowell, J. Velasquez-Pereira, N. S. Wilkinson, S. S. Percival, F. G. Martin, D. B. Bates, A. B. Johnson, T. R. Batra, E. Salgado-Madriz. 1999. Evaluating Copper Lysine and Copper Sulfate Sources for Heifers. *Journal of Dairy Science* 82: 2642-2650. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75521-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75521-9)
- Spears, J. W. 2003. Trace Mineral Bioavailability in Ruminants. *The Journal of Nutrition* 133: 1506S-1509S. <https://doi.org/10.1093/jn/133.5.1506S>
- Smith, P., D. Martino, Z. Cai, D. Gwary, H. Janzen, P. Kumar, B. McCarl, S. Ogle, F. O'Mara, C. Rice, B. Scholes, O. Sirotenko, M. Howden, T. McAllister, G. Pan, V. Romanenkov, U. Schneider, S. Towprayoon, M. Wattenbach and J. Smith. 2008. Greenhouse gas mitigation in agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363: 789-813. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2184>
- Suttle, N. F., D. W. Peter. 1985. Rumen sulphide metabolism as a major determinant of the availability of copper to ruminants. In: Mills, C. F., I. Bremner, and J.K. Chester (eds). *Proc. Fifth Int. Symp. on Trace Element In Man and Animals: Commonwealth Agricultural Bureaux, Faenham Royal, UK*. 367-370 pp.
- Westberg, H., B. Lamb, K. A. Johnson and M. Huyler. 2001. Inventory of methane emissions from U.S. cattle. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* 106: 12633-12642. <https://doi.org/10.1029/2000JD900808>.